UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
JUN 2 '54

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

P. Niggli †: Ordnungsprinzipien der Kristallwelt 193

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

T. Rigg, W. Taylor, and J. Weiss: The Rate Constant of the Bimolecular Reaction Between Hydrogen Peroxide and Ferrous Ion 202

A. Krieg: Nachweis von Kernäquivalenten in Zyanophyzeen 204

F. Mulè: Observation by means of Electron Microscope on the Blood of Subjects Affected with Scarlet Fever 205

Ellen Thomsen and M. Thomsen: Darkfield Microscopy of Living Neurosecretory Cells 206

G. J. Schuringa et J. Isings: Quelques remarques sur l'anisotropie de l'épicuticule de poils animaux 208

Hedi Fritz-Niggli: Unterschiedliche Wirksamkeit der 180-keV- und 31-MeV-Strahlen auf die Letalität von C57-Mäusen 209

W. Sandritter, H. Diefenbach und F. Krantz: Über die quantitative Bindung von Ribonukleinsäure mit Gallozyaninchromalaun 210

P. S. Chen: Observations on the Nucleic Acids During the Development of the Lethal Hybrid *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra atra* ♂ 212

T. W. Goodwin: Some Observations on Carotenoid Synthesis by the Alga *Chlorella vulgaris* 213

G. Giardina: Rôle of the Nucleus in the Maintenance of the Protein Level in the Alga *Acetabularia mediterranea* 215

W. Bollag und Cl. Meyer: Heterologe Transplantation von Tumoren nach Vorbehandlung der Wirtstiere mit radioaktiven Isotopen 215

A. Telkkä and K. K. Mustakallio: Sulfhydryl Groups and Succinic Dehydrogenase in Rat Kidney after Administration of Mercurial Diuretics 216

D. E. Smith, Yvette S. Lewis, and G. Svihla: Prolongation of Clotting Time in the Dormant Bat (*Myotis lucifugus*) . . 218

Mlle M. Jacob, Mme L. Mandel et P. Mandel: Etude de la consommation d'oxygène et de la teneur en acide désoxyribonucléique du foie à divers âges chez le rat 218

G. Astaldi, E. Bernardelli, E. Rebaudo, and R. Parmentier: With Reference to the Relations Between Proliferation Activity of Erythroblasts and their Sensitivity to Hypoxia 220

R. Lallier: Effet de quelques colorants basiques sur l'induction embryonnaire 222

J. Thuillier et A. Burger: Contribution à l'étude du syndrome moteur provoqué chez la Souris par l'amino-dipropionitrile (souris tournantes) 223

N.-Å. Hillarp, H. Olivecrona, and W. Silfverskiöld: Evidence for the Participation of the Preoptic Area in Male Mating Behaviour 224

E. Storti, F. Vaccari und G. Scardovi: Die vasomotorische Wirkung von Heparin bei Normalen und bei an Raynaudscher Krankheit leidenden Patienten 225

P. Stern, E. Košak und A. Misiolija: Beitrag zur Frage der Eisenresorption 227

H. Grossfeld: A Method of Mass Tissue Culture in Bacteriological Culture Dishes (Pro Experimentis) 227

P. J. A. Muffang: Le néphélégraphe (Pro Laboratorio) . . . 229

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie. 3. Auflage. Herausgegeben von Wilhelm Foerst (Verlag Urban & Schwarzenberg, München, Berlin und Wien 1953) (Ref. R. Rometsch) 230

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

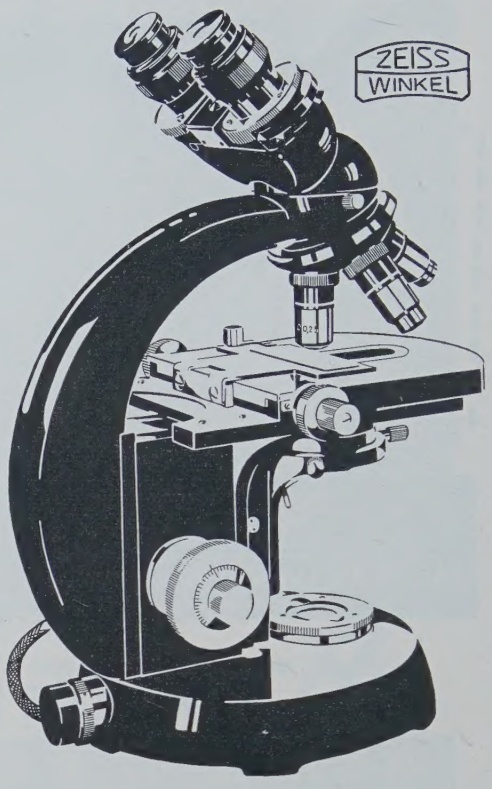
Studiorum progressus: K. Bucher, L. Dettli, and F. Grün: Problems of Gas Exchange in the Lungs 230

Congressus 232

NEUES **ZEISS**-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 625

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie**
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Schlittenrevolver für fünf Objektive**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare mit dezimalgeometrischer Abstufung der Vergrösserungen**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL.(051) 23 97 73
Zürich

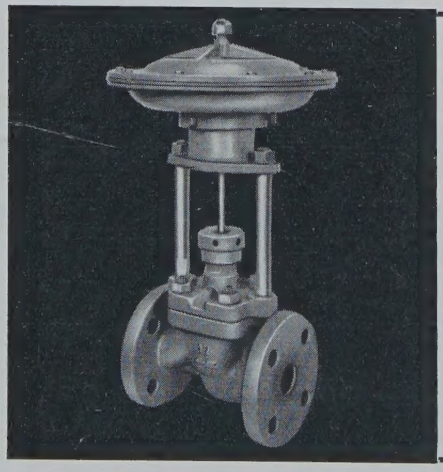
Planen und Auswerten von Versuchen

Eine Einführung für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure

Von Professor Dr. *Arthur Linder*, Professor für mathematische Statistik an der Universität Genf und der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich. 182 Seiten mit 9 Figuren (1953). Ganzleinen Fr. 21.–, broschiert Fr. 17.50.

«Wer Versuche und Beobachtungen statistisch in fruchtbarer Weise auswerten will, muss diese Auswertung vorher sorgfältig und zweckmässig planen. Welche Grundsätze sind nun bei solch einer Planung vornehmlich zu beobachten? Wie lässt sich die Auswertung sinnvoll gestalten? Womit können Ergiebigkeit und Güte der Versuchsergebnisse beurteilt werden? Und nicht zuletzt: Wie vermag man sich vor Fehlschlüssen zu bewahren? Auf diese und andere Fragen gibt das neue Lehrbuch Linders wissenschaftlich fundierte Auskunft. Besonderes Interesse verdient, dass keinerlei Vorkenntnisse in mathematischer Statistik vorausgesetzt werden.»
(*Neue Zürcher Zeitung*)

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL / STUTTGART



Pneumatische Regulierungen

für die chemische Industrie

MUBA: STAND 716, HALLE 3

SAUTER

FR. SAUTER AG., BASEL · FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE

EXPERIENTIA

Vol. X - Fasc. 5 Pag. 193–232 15. V. 1954

Ordnungsprinzipien der Kristallwelt

Von PAUL NIGGLI †, Zürich

Redaktionelle Vorbemerkung: Wir freuen uns, die letzte Arbeit aus dem Nachlass von Prof. PAUL NIGGLI † publizieren zu können. Sie ist das Manuskript eines Vortrages von allgemeinem Interesse, der vor der Basler Naturforschenden Gesellschaft und Studentenschaft hätte gehalten werden sollen.

Die Mineralogie, eingeschlossen die Kristallkunde, ist eine relativ junge Wissenschaft, deren innere Problematik sich im allgemeinen nur den Fachkundigen offenbart, obgleich die Bedeutung der mineralischen Rohstoffe für die Technik und diejenige des Kristallaufbaues für die Struktur der Materie unbestritten ist. Ihre Stellung im Gesamtgebäude der Naturwissenschaften ist dadurch gekennzeichnet, dass sie erstens die grundlegenden Kenntnisse der Festkörper im Gegensatz zum flüssigen und gasförmigen Zustand entwickeln half, zweitens bei der Gliederung unserer Umwelt die Aufgabe zu erfüllen hatte, das Reich des Leblosen zu kennzeichnen, und dass ihr drittens von Anbeginn an eine Mittelstellung zwischen sogenannten beschreibenden und exakten Wissenschaften zukam. In sich enthalten diese Standortsbestimmungen auch heute noch aktuelle und offene Fragestellungen, wie über Abgrenzung und Wesen des sogenannten festen Aggregatzustandes, über die zum Beispiel in der Virenforschung zutage tretenden Grenzfälle zwischen lebender und lebloser Materie und über die besonders von Biologen diskutierten Beziehungen verschiedener Methoden wissenschaftlicher Forschung. Wie andere Naturforscher ist auch der Mineraloge zum Spezialisten geworden, der sich scheut, über sein Fachgebiet hinaus Aussagen zu machen, von denen dann gilt, dass sie nicht mehr sein wollen als Äusserungen rein persönlicher Ansichten. Vielleicht ist es am ehesten möglich, Missdeutungen dadurch entgegenzutreten, dass man versucht, im Fachgebiet selbst die massgebenden Prinzipien, soweit man glaubt, sie überblicken zu können, herauszuschälen und sich anschliessend darauf beschränkt, auf Analogien in anderen Gebieten aufmerksam zu machen.

Ein erstes Anliegen der im 17. und 18. Jahrhundert Wissenschaftsrang erhaltenen Mineralogie war es, das Naturgegebene so zu gliedern und begrifflich festzulegen, dass sinnvolle Weiterforschung ermöglicht wurde. Ein Vergleich der verschiedenen Versuche der Systematik und ihrer Entwicklung macht auf die grossen hiebei auftretenden Schwierigkeiten aufmerksam. Während in der Biologie LINNÉS Klassifikation und Nomenklatur in den Grundprinzipien bis auf die Gegenwart erhalten blieben und nur der durch die Fortschritte bedingten Revision und Korrektur anheimfielen, gilt dies kaum für die Kennzeichenlehre der Mineralien eines WERNER, LINNÉ, WALLERIUS u. a. der zweiten Hälfte des 18. und der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts. Nicht selten haben Unsicherheit und verschiedene Möglichkeiten der Zusammenfassung von Gleichartigem zur irrigen Auffassung Veranlassung gegeben, es sei vom wissenschaftlichen Standpunkte aus im Gebiet der abiologischen Wissenschaften die Gliederung des Seins überhaupt von geringer Bedeutung. Man suchte hiefür nach Gründen, wobei Fehlen von Organen, Teilbarkeit der Mineralien ohne Verlust ihres Gesamtcharakters, Ganzheitsbegriffe herangezogen wurden. Und trotz der Unterschiede zwischen biologischen und abiologischen Individuen und Sachverhalten setzt beiderorts derjenige Teil der Wissenschaft, der im buntschillernden Gewand der sogenannten Ursachenforschung auftritt, voraus, dass sich die Mannigfaltigkeit des Seinsbestandes in Teilinhalte gliedern und in Allgemeinbegriffen zusammenfassen lässt. In manchen Weltbildern von Naturforschern ist von diesen Primärergebnissen der Naturforschung nur deshalb nicht die Rede, weil man mindestens in vorläufiger Weise die Kenntnisse voraussetzt. Man experimentiert mit Kalzit, Steinsalz oder Quarz oder mit bestimmten Pflanzen oder Tieren, deren lateinische Bezeichnungen gegeben werden, und glaubt, dass es sich hiebei um selbstverständliche, scharf umgrenzte, invariable Einzelkörper oder Sachverhalte handelt. Man versucht, atomares und molekulares Geschehen in komplexen Naturkörpern aufzuhellen, ohne die Grundgesetze des Stufenbaus der Welt zu erwähnen, die erst hiefür die Berechtigung ergeben. Und eine Grosszahl wichtiger Fortschritte der Naturerkenntnis resultieren, wenn Experimente dartun, dass die angenommenen Vorstellungen vom Aufbau Widersprüche ergeben, die nur beseitigt werden können entweder durch Umbau dieser Vorstellungen oder durch Fallenlassen bis jetzt als genügend angesehener dynamischer Hauptgesetze.

Der derzeitige Stand der Atomkernforschung ist nur eines von vielen Beispielen dieser Art: die Einführung des Mesonenbegriffes ist besonders kennzeichnend. Das

Vorgehen, die Eigenschaften des Naturgegebenen auf Grund bestimmter, mühsam erarbeiteter Aufbauprinzipien durch Spezifizierung und Generalisierung dem menschlichen Verständnis zu erschliessen, ist einerseits eine Vorbedingung weiterer wissenschaftlicher Forschung und bietet andererseits nach Läuterung der Vorstellungen durch Überprüfung der Konsequenzen ein zusammenfassendes Abbild des Seins und damit auch seiner Manifestation im Geschehen. So rechtfertigt die Darstellung der Tektonik, Struktur und Formenprägung der Welt also die Aufdeckung der Ideen, nach der sie geformt erscheint, eine Darstellung komplementär derjenigen, die Grundgesetze kausaler Zusammenhänge beschreibt. Beide Tendenzen der Naturforschung stehen jedoch nicht beziehungslos nebeneinander, sondern müssen sich ständig gegenseitig befruchten, wie das in der Mineral- und Kristallkunde von jeher der Fall war.

Das Studium des Stoffbestandes der festen Erdkruste, der Lithosphäre, führte zum Begriff der Mineralien, das heisst der verschiedenen Teileinheiten, die nach den jeweiligen zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden in sich einheitlich gebaut erschienen. Sie sind die Einzelbestandteile oder Individuen der als Aggregate oder Assoziationen zu bezeichnenden Minerallagerstätten und Gesteine. Der Raumerfüllung nach handelt es sich um kleine Einheiten, und nach Einführung mikroskopischer Methoden erwies sich vieles noch als zusammengesetzt oder heterogen, das für das blosse Auge nicht mehr gliederbar war. Allein gleichzeitig wurde festgestellt, dass viele Einzelindividuen im gleichen Aggregat oder an verschiedenen Fundorten der Erde soviel Gemeinsames besitzen, dass sich die Zusammenfassung unter einem Begriff aufdrängte. In der Mannigfaltigkeit zeigte sich, wie überall in der Natur, ein Beharrendes, eine Beschränkung, ein Parallelismus, eine innere Verwandtschaft. Wie in analogen Fällen, denken Sie an die Pflanzen, Tiere, Moleküle, Atome, Elementarteilchen, entstand die Frage der zweckmässigen Zusammenfassung der Individuen zu Spezien oder Arten. Dabei bedeutet in wissenschaftlichem Sinne zweckmässig eine Zusammenfassung, die weiteren Fortschritt der Erkenntnis ermöglicht, also Aussagen gestattet, die innerhalb eines Bereiches des Verhaltens, mindestens in erster Annäherung für alle Individuen gelten, die im Oberbegriff zusammengefasst sind. Nur so lassen sich ja auch experimentell Verhaltensgesetze aufstellen, lässt sich Ursachenforschung betreiben, da in beiden Fällen ein gefundenes Einzelergebnis in Serienversuchen verifiziert werden muss.

Auf Grund dieses Zieles ist der Begriff der Spezies eigentlich ein Begriff *a posteriori*, der erst aufgestellt werden kann, wenn an allen Individuen die gesamte Reaktionsfähigkeit durchprobiert und die Variationsbreite dessen, was als gleiches Verhalten bezeichnet werden darf, abgeklärt ist. Es ist jedoch offensichtlich, dass eine derartig strenge Fassung für die Forschung entwicklungshemmend wäre. Gleiches gilt etwa, wenn für die Zusammenfassung zu einer Art von den lebenden Individuen mit geschlechtlicher Fortpflanzung stets der unmittelbare Nachweis verlangt würde, dass sie untereinander eine zur Fortpflanzung befähigte Gemeinschaft bilden. Es müssen (zu einem grossen Teil intuitiv) verschiedene Eigenschaften auf ihre Brauchbarkeit zur Kennzeichnung eines engeren Verwandtschaftsgrades bzw. einer natürlichen Gliederung und Zusammenfassung bewertet werden, so dass frühzeitig eine ihrem Wesen nach provisorische, das heisst stets revisionsfähige Klassifikation aufgestellt werden kann. Das ist eine schwierige, jedoch für die Weiterforschung absolut notwendige Aufgabe. Auf Grund zunächst weniger Erfahrungen gilt es somit, für die Systematik wesentliche von unwesentlicheren Eigenschaften zu trennen und Prinzipien zu finden, die sich bei weiterer Anwendung zur Gliederung der vorgegebenen Mannigfaltigkeit brauchbar erweisen und eine sinngemässe Ursachenforschung ermöglichen.

Für die Mineralienklassifikation konnte es sich offenbar nur darum handeln, physikalische, chemische und morphologische Aspekte nach ihrer Bedeutung für die Systematik richtig zu bewerten und in der hiefür besonders charakteristischen Kombination als Artkennzeichen zu benutzen. Nichts könnte den notwendigen geistigen Arbeitsaufwand so gut verdeutlichen wie eine kurze Geschichte der Mineralienkunde von 1650 bis zur Gegenwart mit ihren vielen Irrwegen, aber auch mit den mannigfaltigen Impulsen, die gerade dadurch der Forschung als Ganzes verliehen wurden. Alle auf physikalischen Einzeleffekten aufgebauten Systeme, alle nur die analytisch-chemischen Teile umfassenden Gliederungen versagten, führten jedoch gleichzeitig zu Ergebnissen und Begriffen, wie etwa der Isomorphie und Polymorphie, die fundamentale Bedeutung erlangten. Und schliesslich war es doch möglich, übersichtliche Zusammenfassungen zu erhalten, die so erkenntnisträchtig waren, dass sie nicht nur der gesamten physikalisch-chemischen Forschung freie Bahn schafften, sondern auch darzutun vermochten, dass es möglich ist, Urbilder des Aufbaues der Natur zu deduzieren.

Lassen Sie mich, wenn auch nur skizzenhaft, einen Abschnitt herausgreifen, der dem Begriff Kristall gewidmet ist, da es sich gerade hiebei um etwas handelt, das nicht nur für die Mineralien, sondern für viele natürliche und künstliche Gegenstände des Alltags von Bedeutung ist.

Von altersher haben die gewissen Bestandteilen der Erdkruste zukommenden eigenartigen Formen die Aufmerksamkeit erregt, doch erst im 17. Jahrhundert wurden versuchsweise und zunächst ohne bestimmtes Prinzip Naturgebilde mit regelmässigen geometrischen Umrissen abgetrennt und näher untersucht. In einem Neujahrsbrief 1610/1611 behandelte Johannes Kepler die Gestalt der Schneekristalle mit folgender hübschen Einleitung:

«Wie ich so grübelnd und sorgenvoll über die Brücke gehe und mich über meine Armseligkeit ärgere und darüber, zu Dir ohne Neujahrsgabe zu kommen, wenn ich nicht immer dieselben Töne anschlage, nämlich dieses Nichts angebe oder das finde, was ihm am nächsten kommt und woran ich die Schärfe meines Geistes übe, da fügt es der Zufall, dass durch die heftige Kälte sich der Wasserdampf zu Schnee verdichtet und vereinzelte Flocken auf meinen Rock fallen, alle sechseckig und mit gefiederten Strahlen. Ei, beim Herakles, das ist ja ein Ding kleiner als ein Tropfen, dazu von regelmässiger Gestalt. Ei, das ist eine höchst erwünschte Neujahrsgabe für einen Freund des Nichts! (*Atque en fatale nomen. O rem Wackherio gratissimam Nihilamanti. Nam si a Germano quaeras Nix quid sit, respondebit Nihil, siquidim Latine possit.*) Und auch passend als Geschenk eines Mathematikers, der Nichts hat und Nichts kriegt, so wie es da vom Himmel herabkommt und den Sternen ähnlich ist.»

In den Abhandlungen zweier Dänen, Nikolaus Steno und Erasmus Bartholinus, findet man 1669 erste Hinweise auf Eigenschaften sogenannter *Corpora angulata*, die ermöglichten, das Gestaltliche näher zu präzisieren. 1688 erfolgte durch den Italiener Domenico Guglielmini eine schärfere Fassung der durch diese Arbeiten bereits angetönten Gesetze, bezogen auf die künstliche Salzbildung, und von den zwei Schweizern Johann Heinrich Hottinger und Moritz Anton Cappeller erschienen 1688 und 1723 die ersten Kristallographien (*Krystallologia und Prodromus crystallographiae*). Auch heute noch wirksame Schwierigkeiten galt es zu überwinden: Erstens aus der Fülle der oft nur als zufällige Naturspiele angesehenen Formen eine Gruppe innerer Zusammenhänge herauszugreifen, eben das, was man heute Kristallgestalten nennt, und zweitens das Wesentliche dieser in Grösse und äusserem Aspekt so wechselvollen Erscheinungen zu erkennen. Kepler ist am Schneestern vor allem die Sechsstrahligkeit, das heisst eine gewisse Symmetrie aufgefallen, die indessen nur annäherungsweise voll entwickelt ist. Steno stellt unabhängig von der Grösse beim Bergkristall ebenflächige Begrenzung fest mit Winkelkonstanz zwischen einigen Flächen verschiedener Kristallindividuen und Bartholinus misst die Flächenwinkel an Kalzitrhomboedern von Island und erwähnt, dass gleiche Winkel zwischen diesen Flächen nicht nur dem unverletzten Körper, sondern beim Zerkleinern auch den Spaltstücken zukommen. Zugleich stellt er gesetzmässige optische Effekte fest, die dann Christian Huyghens weiterverfolgte.

Aus den experimentellen Untersuchungen über Salzkristallisationen folgerte Guglielmini:

«Und in Wahrheit, wenn man nur eines der Salze beobachtet in seiner immer gleichartig gebildeten Form, so muss man die Meisterschaft der Natur bewundern, die zwar an die Einfachheit gebunden ist, aber nur wie ein Geometer zu arbeiten versteht, indem sie den reinsten Teilen der Materie bald die eine, bald eine andere Form beschreibt... Man darf indessen nicht glauben, dass man nun auch öfters dazukommt, bei den Salzen die Formen, die ich bisher beschrieben habe, in einem gewissen Masse der Vollkommenheit zu sehen. Vorhanden sein müssten sie an jedem Kristalle, obgleich diese vielfach entweder unvollständig hinsichtlich der Ecken sind... Konstant ist dessen ungeachtet, vorausgesetzt, dass es zum Beginn einer Kristallisation kommt, immer die Neigung der Flächen und der Winkel, woran man an den nicht sehr gut ausgebildeten Kristallen gut erkennt, wo sie endigen müssten, weil davon notwendig die Begrenzung der Form abhängt, und man erkennt darin die Absicht der Natur sowie die Neigung der Materie, sich soviel als möglich in ihrer natürlichen Form anzuordnen.»

Aus diesen Hinweisen ersehen Sie folgendes: Aus der Fülle der geometrisch denkbaren Beschreibungselemente der Kristallgestalten, umfassend Gesamtgrösse, Oberflächenbeschaffenheit, Grösse der einzelnen Oberflächenelemente usw., wurden für die Charakterisierung herausgegriffen: Tendenz zu bestimmten Wiederholungen, also Symmetrie, Tendenz, ebene Grenzflächen zu entwickeln, und als Wesentliches und Beharrendes Gesetze der Winkelbeziehungen, also der Positionen dieser ebenen Kristallflächen zueinander. Sehr deutlich geht aus den Arbeiten hervor, dass das wirkliche Verhalten in mannigfachen Widersprüchen zu den Annahmen stund. Symmetrie der äusseren Gestalt wird stets unvollkommen erreicht, und ebenflächige Begrenzung sowie Winkelkonstanz der Kristallflächen seien streng aus der genauen Beschreibung deduzierbar. Intuitiv wurde jedoch aus den Beobachtungen gefolgert, dass trotz aller Abweichungen vom Ideal diese Annahme, es sollte so sein, den *Wesenskern* erfasse. Diese Bewertung der Faktizität, diese Trennung von wesentlichen und von für eine erste Charakterisierung nebensächlichen Erscheinungen war die grosse wissenschaftliche Leistung. Es wurde die Idee einer normativen Kristallmorphologie geboren, an Stelle ungeordneter reiner Beschreibung trat eine bewusst geordnete und schematisch idealisierte Darstellung, von der man erhoffte, dass sie die Absicht der Natur am besten erkennen lasse und Aufbaugesetze widerspiegle, die nur durch mannigfache Nebenumstände dem unkritischen Beobachter verborgen bleiben. Hielt dies weiterer Nachprüfung stand, so war zugleich bewiesen, dass der kristallisierenden Substanz ein auf inneren Gesetzen beruhendes Form- und Gestaltungsstreben zukommt, das sich in dem resultierenden Wachstumskörper zu manifestieren sucht. Von Anbeginn hat man natürlich den Ursachen dieses eigentümlichen Verhaltens nachgeforscht und glaubte dabei, wie das noch heute häufig der Fall ist, durch Rückführung auf Strukturellmorphologisches bereits Ursachenforschung zu treiben. Einige Zitate aus Cappellers *Prodromus*, 1723, mögen dies bezeugen.

«Wenn man nun schon die verborgene Art, wie die Natur arbeitet, das heisst den Mechanismus, durch den die Kristallformen erzeugt werden, zu durchschauen und zu erkunden wünscht, wie das eine mehr als bloss oberflächliche Kenntnis der Naturkörper erfordert, so muss man vor allem mit angestrengter Sorgfalt und Anwen-

dung stereometrischer Methoden die vollständige Konfiguration der Salzkörper erforschen und erwägen. Alsdann ist durch Ausführung analytischer Versuche nicht nur die Art, sondern auch die Grösse aller Kristalle zusammensetzenden Teile zu erforschen, denn auf diese Weise werden wir nicht nur die Gestalt der Teilchen möglichst angenähert erhalten, sondern auch die Anordnung und Lage, nach der sie gegenseitig aneinandergefügt sind, wird dem Auge des Geistes offenbar werden.

In Kürze lässt sich die Kristallisation und das Ergebnis derselben, das Kristallisationsprodukt, folgendermassen beschreiben: In irgendeiner nicht zu zähen Flüssigkeit seien Partikelchen, die mit bestimmten und eigentümlichen Formen versehen sind, aufgelöst und schwimmen darin umher, oder auch Moleküle, die aus Partikelchen zusammengesetzt sind und Gestalt besitzen. Diese sollen nun dichter zusammengebracht werden, entweder durch ständige Vermehrung dieser Partikelchen oder durch Einengung der Flüssigkeit infolge Verdampfung oder sonstwie. So werden die einzelnen Teilchen durch die innere Bewegung der Flüssigkeit selbst und des sie ständig durchdringenden Äthers bewegt und an verschiedene Stellen getrieben; alsdann werden sie mit ihren Aussenseiten je nach ihrer Gestalt verbunden, hängen sich aneinander und bilden schliesslich durch fortschreitende Vermehrung feste Körper mit bestimmter Gestalt, die bald mehr, bald weniger vollkommen ist, je nach der Art der Bewegung, die bald sanft, bald zu heftig, bald behindert ist. Diese Gestalt hängt vor allem von den ursprünglichen Formen der zusammensetzenden Teilchen ab und ergibt sich daraus.

Dieser Vorgang der Kristallisation mag nun wohl nur einer sein, was die Vereinigung der Teilchen anlangt, kann aber darin verschieden sein, dass bei einer anderen Flüssigkeit ein Unterschied in Erscheinung tritt und mehr oder weniger vollkommen ausgelöst wird. Wir haben hier nicht diejenigen Unvollkommenheiten im Auge, die gewissermassen als von aussen her kommende und nebensächliche Ursachen die Kristallisationen stören und mit Ungleichheiten behaften, sondern jene, die durch die Arten der Kristallisationen selbst zustande kommen, wenn diese entweder zu stark wirken oder überhaupt rasch auftreten, und die aufs nächste an die Koagulation heranreichen.»

Es sind Fragen der Genesis, die hier angeschnitten wurden. Doch bevor die diesbezüglichen Ansichten näher präzisiert werden konnten, war es notwendig, die Idealvorstellung vom Wachstumskörper der Kristalle weiterzuentwickeln und in ihren Konsequenzen nachzuprüfen. War es richtig, in den ebenen Grenzflächen freigewachsener Kristalle eine durch Binnengesetze bedingte Erscheinung zu vermuten, so lag es nahe, die idealisierten Kristallgestalten als besonders typische Kennzeichen eines bestimmten Kristallzustandes der Systematik dienstbar zu machen. Dadurch, dass man die Kristallflächen durch ihre Normalenrichtungen ersetzte und durch Errichtung eines von irgendeinem Punkt aus konstruierten Flächennormalenbündels das Gestaltliche schematisierte, wurde dem vermuteten Vorrang der Ebenenpositionen über alle anderen morphologischen Grössen Rechnung getragen. Auf Grund einfacher mathematischer Beziehungen ordnete sich dem Flächennormalenbündel ein Geradenbündel zu, das in ihrer gegenseitigen Lage zueinander die Schnittkanten der Polyeder bildenden Wachstumsebenen veranschaulichte, das Zonenbündel.

Das Problem der Verwertung morphologischer Daten zur Körpersystematik wäre nun ein sehr einfaches gewesen, wenn alle Einzelkristalle, die man aus physikalischen und chemischen Gründen gezwungen war als Individuen der gleichen Kristallart anzusehen, mindestens bei freier, von Ausseneffekten ungestörter Bildung zum gleichen Flächennormalen – bzw. gleichen Zonenbündel geführt hätten. Das Auftreten analoger Winkel zwischen Flächennormalen hat dies vermuten lassen. Allein die genaue Untersuchung, an der sich im 18. und 19. Jahrhundert viele Forscher beteiligten, ergab ein wesentlich komplexeres Bild, das zunächst den Wert dieser Schematisierungen fraglich erscheinen liess. An verschiedenen Individuen der gleichen Kristallisations- oder vermuteten Artgenossenschaft wurden in den zugeordneten Richtungsbündeln neben positionsmässig gleichen zusätzliche weitere Richtungen festgestellt, ja es gab manche Fälle, bei denen sich keinerlei Richtungen miteinander zur Deckung bringen liessen. Bestätigten die Wiederholungen (eben das, was man zunächst Winkelkonstanz genannt hat) das *Gesetzmässige*, so wiesen die zuletzt genannten Phänomene auf eine *Freiheit der Gestaltungsmöglichkeit* bei gleicher Grundsubstanz hin. Den Forschern schien es jedoch kaum glaublich, dass einerseits in ganz bestimmter Beziehung zueinander stehende Richtungen bzw. Flächenlagen viele Kristallgestalten beherrschen und daneben andere nur Zufallsgesetzen unterworfene Elemente hinzukommen sollten. Sie suchten, ob zwischen den verschiedenen vermutungsweise artgleichen Richtungen der Normalen- oder Zonenbündel nicht engere Beziehungen erkennbar seien. Ihre Bemühungen wurden durch Auffinden einfacher mathematischer Beziehungen gekrönt.

Wählt man drei nicht koplanare Richtungen des Flächennormalen- oder des Zonenbündels zu Grundvektoren, deren Länge durch einen vierten Vektor als Einheitsvektor bestimmt wird, so ergeben sich daraus alle übrigen je beobachteten Richtungen der zugeordneten Bündel einer einheitlichen Kristallisation durch vektorielle Zusammensetzung. Normalerweise ist es möglich, die vier Hauptvektoren so zu wählen, dass nur einfachste vektorielle Zusammensetzungen mit niedrigen ganzen Zahlen die Gesamtheit der beobachteten Richtungen abzuleiten gestatten (sog. Rationalitätsgesetz oder Grundgesetz der Kristallmorphologie). Abgesehen davon, dass aus diesen Eigenschaften eine mathematisch einfache Kennzeichnung der Kristallflächen und Kristallkanten resultiert (unter Verwendung von Konstanten und Indizes), löst diese Erkenntnis für den Begriff der idealen Kristallmorphologie eine der wichtigsten Aufgaben jeglicher morphologischen Betrachtungsweise. Es sind die geeigneten Methoden zur Erforschung eines variablen Tatbestan-

des gefunden worden, eine dem Gegenstand angepasste *Mathematik*.

Für die Grenzelemente des freien Wachstums lässt sich ein jeder Kristallsubstanz eigentümliches *Rahmengesetz* ableiten, das alle denkbaren Möglichkeiten normaler Grenzflächenentwicklung umfasst. Innerhalb dieses Rahmengesetzes ist ein *Spielraum* vorhanden, in welchem, wie Naturbeobachtung und Experiment dartun, besondere Milieueinflüsse beim Wachstum die eine oder andere Kombination aussondern. Die Summe der möglichen ebenen Wachstumskanten oder Kantenrichtungen bildet eine scharf definierte Ganzheit. Das die Ganzheit charaktisierende Gesetz wurde gefunden.

Nun können aber den Vektorenfiguren, den Strahlenbündeln gewisse Symmetrien zukommen, die bei Herrschaft des Rationalitätsgesetzes zu einer endlichen, mathematisch leicht ableitbaren Mannigfaltigkeit von 32 grundsätzlich verschiedenen Fällen führen. Die Feststellung, dass gerade diese 32 Punktsymmetriegruppen den beobachteten, auch physikalisch unterscheidbaren Kristallsymmetrien, den sogenannten Kristallklassen, entsprechen, bewies, dass tatsächlich ein Grundgesetz des Kristallseins aus der Wachstumsmorphologie bzw. deren Idealisierung erschlossen war.

Nochmals muss betont werden, dass diese fundamentalen Ergebnisse das Resultat einer höchste Konzentration erfordernden kritischen Durchmusterung des Naturgegebenen war, mit intuitiv richtiger, das heisst neue Einsichten vermittelnder Bewertung der Beobachtungen. Es sei daran erinnert, dass ebene Flächen und geradlinige Kanten als morphologisch Wesentliches der Wachstumskörper herausgegriffen wurden und dass deren Lagebeziehungen zueinander als primär wichtig dem Studium unterworfen wurden. Wir kennen heute viele Kristallgestalten, die, wären sie zum Ausgangspunkt der Forschungen gewählt worden, nie gestattet hätten, die erwähnten Gesetze aufzufinden. Der Forscher muss nicht nur wahrheitsgemäss und exakt beschreiben, er muss, um Grundgesetze oder Grundideen zu entdecken, bewerten, die Phantasie walten lassen, intuitiv erkennen, dass gewisse Erscheinungen anderen untergeordnet sind. So wie der begnadete Künstler nicht die photographische Wiedergabe anstrebt, sondern zur Erfassung einer Idee Nebensächliches eliminiert, anderes heraushebt, hat auch die Wissenschaft, handle es sich um beschreibende Darstellungen oder Ursachenforschung, zunächst das Komplexe durch Einfacheres zu ersetzen. Nur so konnte sich die Überzeugung festsetzen, in einer Teilerscheinung des Kristallwachstums ein beherrschendes Grundprinzip gefunden zu haben.

Doch die übrigen auftretenden Phänomene wurden keineswegs unterschlagen, das wäre ja vollkommen unwissenschaftlich gewesen, sie wurden nur durch folgende Argumentation in einen weiteren Problemkreis einbezogen. Zeigt die ebenflächig polyedrische und durch das Rationalitätsgesetz näher bestimmte Umgrenzung des Wachstumskörpers der Kristalle die deutlichste Manifestation wirksamer Innenfaktoren, so lassen sich auch Umstände denken und experimentell verwirklichen, die zu keinen ebenen, sondern gekrümmten Grenzflächen führen, die keine konvexe Polyeder, sondern wie beim Schneestern dendritische oder skelettartige Bildungen ergeben, die Grenzflächen erzeugen, deren Zugehörigkeit zum Rationalitätskörper zweifelhaft ist. Ja, die Begrenzung während eines Wachstumsstadiums kann so vollständig von Aussenfaktoren bestimmt werden, dass sich das von innen nach aussen wirkende Formbestreben gar nicht mehr durchzusetzen vermag. Dass es jedoch der Kristallsubstanz an sich zukommt und es sich in allen anderen genannten Fällen wissenschaftlich gesprochen um sekundäre Phänomene handelt, zeigen nicht nur Erscheinungen der Spaltbarkeit und der physikalischen Eigenschaften als Ganzes, sondern Wachstumserscheinungen und Regenerationsphänomene an künstlichen Ausgangskörpern. Schneiden wir aus einem grösseren Kristall eine Kugel und bringen diese in eine Dampf- oder Lösungsphase, die unter den vorhandenen Bedingungen die Weiterbildung der gleichen Kristallverbindung allseitig ermöglicht, so stellen wir fest, dass der Stoffansatz in verschiedenen Richtungen mit verschiedener Geschwindigkeit erfolgt, und dass unter Auftreten von gesetzmässig orientierten Ebenenbereichen über mannigfache Zwischenstadien schliesslich ein konvexer polyedrischer Wachstumskörper entsteht. Bei freiem Wachstum kommt somit dieser *Formwillen* zur Geltung und erreicht damit die zwingende Vorstellung, dass den Kristallen ganz bestimmte innere Baugesetze eigen seien. Aber nicht nur das Kugelexperiment bestätigt, dass es sich hier um eine natürliche, dem Stoff innewohnende Formgebung handelt. Verstümmeln wir ein solches eigengestaltiges Kristallindividuum und lassen wir das Bruchstück unter den ursprünglichen Bedingungen weiterwachsen, so regeneriert sich seine Gestalt. Die Bruchform besitzt ein *Regenerations-* und *Ausheilungsvermögen*.

Offenbar bedingen somit eine innere Metrik und eine gesetzmässige Binnenstruktur das aussengestaltliche Verhalten bei der Kristallbildung, soweit es sich den Ausseneinflüssen gegenüber durchzusetzen vermag.

Noch handelt es sich zunächst um keine eigentliche Ursachenforschung, sondern um einen Korrelationsversuch, wenn man nach den strukturellen Gesetzen forscht, die das phänomenologische Verhalten verständlich machen. Dabei ist von der atomaren Struktur der Materie auszugehen und es müssen über den Aufbau Vorstellungen entwickelt werden, die zwingend zu den als grundlegend erkannten äusseren Kristallgesetzen führen.

Auch dieser morphologische Versuch war so erfolgreich, dass es gelang, die Gesamtheit aller wesentlichen Erscheinungen auf eine einzige Arbeitshypothese zurückzuführen, auf die Raumgitterstruktur kristalliner

Materie, die, nachdem sie rein theoretisch schon vollständig entwickelt war, mit Hilfe neuer experimenteller Methoden in ihrem ganzen Umfang bestätigt werden konnte. Wiederum lag dem Vorgehen eine *Idee* zugrunde, die durch Schematisierung, beispielsweise Ersatz der atomaren Teilchen durch Punkte, als einfaches mathematisches Problem so lösbar wurde, dass die gesamte damit verträgliche Mannigfaltigkeit überblickt werden konnte. Es handelt sich um den Teil einer grösseren Aufgabe, nämlich derjenigen, sich darüber Rechenschaft zu geben, was für Möglichkeiten in Raum und Zeit der atomaren Teilchen bei der Bildung distinkter Atomverbände zur Verfügung stehen und nach welchen Prinzipien diese zweckmässig zu gliedern sind. Es mussten die geometrischen Grundlagen der Stereochemie entwickelt werden.

Gehen wir von einem idealisierten Zustande aus, wie er nur angenähert in den Edelgasen verwirklicht ist, einem Zustand, in welchem die zwischen den Einzelatomen wirksamen Kräfte so geringfügiger Natur sind, dass sie eine freie Beweglichkeit und völlig ungeordnete Verteilung ermöglichen, so wird offensichtlich, dass jeder als chemisch zu bezeichnende Vorgang einen Ordnungsprozess darstellt. Bereits in den normalen Gasen und Flüssigkeiten tritt er ein, indem die von der diskontinuierlichen Struktur der Materie geforderten Atome infolge von Kräften, die sie aufeinander ausüben, zu sogenannten molekularen chemischen Verbindungen zusammentreten. Von letzteren sprechen wir ja, wenn gut definierte Atomverbände in gewissen Bereichen bestandfähig werden, als Ganzes reagieren und neue stoffliche Eigenschaften bedingen. Im gleichen Sinne ist die Kristallisation ein Aussonderungs- und Ordnungsprozess, sei es, dass derartige Moleküle oder mehratomige Radikale durch gegenseitige Kräfteeinwirkungen zu Verbänden höherer Ordnung, den Molekülkristallen, zusammentreten oder von Anfang an Konfigurationen bilden, deren Bauprinzip keinen endlichen Abschluss gestattet. Die geometrische Behandlung, wobei zunächst die Atomarten durch ihre Schwerpunkte ersetzt werden, so dass für die mathematische Behandlung Punktfigurationen entstehen, zeigt nämlich, dass es zwei Typen von Punktanordnungen gibt, solche mit endlicher Zahl der Punkte und natürlichem Abschluss im endlich umgrenzten Raum und solche, die sich dem Baumotiv nach ein-, zwei- oder dreidimensional ins Unendliche erstrecken müssen. Kann man den am Verband beteiligten Punkten bzw. Teilchen bestimmte Koordinationszahlen und Koordinationsschemata zuordnen (das heisst bestimmte Zahlen der an sie gebundenen Teilchen und bestimmte Motive der Anordnung), so bestimmen diese bei gleichartiger Wiederholung des Vorganges, ob ein ungeordnetes Haufwerk molekularer Teilchen oder ein in sich zusammenhängender Verband entsteht, der wie ein Tapetenmuster sich unbegrenzt fortsetzen lässt. Im letzteren Fall entstehen als Deckoperationen Translationen, und diese müssen eindimensional eine Kettengruppe, zweidimensional eine Netzgruppe, dreidimensional eine Raumgruppe oder ein Raumgitter bilden. Ihnen aber kommen alle Attribute zu, die den kristallinen Aufbau kennzeichnen. In den Kristallverbindungen wird der Prozess der Bildung der Verbindung zum Wachstumsprozess, der sich so lange fortsetzt, als Material zur Verfügung steht. Und die dreidimensionalen kristallinen Konfigurationen zerfallen aufbaugemäss in Netzebenenfolgen und Gittergeraden, die zueinander im gleichen Verhältnis des Rationalitätsgesetzes stehen wie natürliche Kristallflächen und Kristallkanten. Zugleich sind sie in bezug auf Teilchenanordnung die ausgezeichneten zwei- bzw. eindimensionalen geometrischen Elemente, die man durch die Kristallstruktur als Innen- oder Randelemente legen kann. Es verwundert daher nicht, dass sie beim Wachstum zu bevorzugten und wiederholbaren Grenzelementen werden. Da zudem die so charakterisierte Raumgitterstruktur nur eine beschränkte Zahl von Symmetriefällen zulässt, die sich für die phänomenologische Betrachtung auf die 32 Kristallklassen reduzieren, vermag diese Vorstellung vom Aufbau der Kristalle alle Grundgesetze des Kristallseins abzuleiten, so dass der Kristallograph bereits vor der Möglichkeit des experimentellen Nachweises mittels Röntgenstrahlen überzeugt war, die für das Kristallsein massgebenden Strukturgesetze gefunden zu haben. Ohne irgend etwas über die Natur der Kräfte zu wissen, ohne eigentliche Ursachen angeben zu können, gelang so den Kristallographen die Aufstellung von Strukturgesetzen der Materie, die Schöpfung von Urbildern des Kristallzustandes oder, wie wir heute sagen müssen, des Idealkristallzustandes. Denn wenn wir bedenken, dass sich beispielsweise in einem Steinsalzwürfel von einem halben Zentimeter Kantenlänge die Baumotive bereits tausendtrillionenfach wiederholen müssen, wird evident, dass schon zur Bildung kleinster sichtbarer Kristalle eine ungeheure Zahl von Einzelschritten der Einordnung und Anlagerung notwendig ist, so dass es ein Wunder wäre, wenn sich bei diesem Ein- und Aufbauprozess nicht Fremdteilchen einlagern, nicht Fehlstellen sich ergeben würden und die strenge Periodizität sich nicht häufig auf kleine Einzelblöcke oder Lamellen beschränken würde. Der Realkristall wird kaum je den Idealzustand erreichen. Anderseits werden, da sich in merklicher Intensität die von den Teilchen aufeinander ausgeübten Kräfte nur über wenige Teilchenabstände bemerkbar machen, schon in relativ kleinen Kristallen viele Millionen Teilchen praktisch sich verhalten wie in einem sich ins Unendliche erstreckenden Kristall; die Randstörungen, erzeugt durch die Unabgesättigtheit der Grenzflächen, haben nur sehr geringe Tiefenwirkung. So wird verständlich, dass man in endlichen Kristallbereichen oder an kleinen Kristallbruchstücken bereits die richtungsabhängigen physikalischen Eigenschaften studieren kann, wie sie dem Kristallzustand

als Ganzes zukommen, wobei sich Fehlordnungen für gewisse Effekte statistisch kompensieren oder verstärken können. Dem Idealkristall ist somit der Realkristall mit allen seinen Abweichungen oder pathologischen Veränderungen des Normativen oder idealen Verhaltens entgegenzustellen, und viele Eigenschaften sind auf «Strukturfehler» rückführbar. Doch das darf uns ebensowenig wie in der Lehre von der äusseren Kristallgestalt daran hindern, zunächst die gefundenen fiktiven Idealstrukturgesetze weiterzuverfolgen, und den durch sie gegebenen Inhalt voll auszuschöpfen. Der Ausbau führte zu einer Neufassung des Begriffes Kristall bzw. kristalliner Zustand der Materie. Das geht schon daraus hervor, dass vom strukturellen Standpunkt aus der Begriff unabhängig vom Aussengestaltlichen der Wachstumskörper wurde und zur einfachen Charakterisierung von den Randbedingungen absah, da wie im Phasenbegriff an sich ins Unendliche sich ausdehnende Raumerfüllung vorausgesetzt wurde. Das ermöglichte die innenmorphologische Kennzeichnung eines bestimmten Kristallzustandes ohne Kenntnis der angestrebten Wachstumsformen. Die Gliederung der verschiedenen Kristallverbindungen wurde zu einer Systematik der verschiedenen Kristallstrukturen. Trotzdem blieb die Korrelation der bei freiem Wachstum auftretenden Erscheinungen mit den strukturellen Eigenschaften eine erste wichtige Problemstellung. Die Erkenntnis, dass die Grenzflächen der Wachstumsstadien normalerweise Netzebenen, die Kanten Gittergeraden parallel gehen, stellte nur den Anfang eines in ständiger Entwicklung befindlichen Kapitels der Forschung dar, das neben experimentellen Untersuchungen eine statistische Bearbeitung des Formenmaterials verlangte. Die angestrebte äussere polyedrische Form mit ebenen Flächen und gradlinigen Kanten als Begrenzungselementen ist ein Abbild der raumgitterartigen Struktur. Bei freiem Kristallwachstum entwickeln sich parallel wichtigen Gittergeraden und Netzebenen die Kristallflächen und ihre Schnittkanten oder Zonen. Innerhalb des Rahmengesetzes werden Kristallflächen und Kristallkanten nach ihrer dem Strukturtypus zukommenden Wichtigkeit geordnet, wie aus einer Häufigkeitsstatistik klar hervorgeht. Die für die Kristallmorphologie massgebenden Wachstumsebenen gehen den bei der Kristallbildung wichtigsten (das heisst neu hinzukommenden) Bindungs- bzw. Koordinationsrichtungen parallel, liegen also in den Zonen dieser Richtungen. Innerhalb dieser Zonenverbände treten diejenigen Flächen besonders hervor, welche Netzebenen relativ dichter Belastung mit Massenteilchenschwerpunkten oder Netzebenenserien relativ einfachen Baues entsprechen. Die vorkristallinen Zustände in Lösungen, Schmelzen oder Dämpfen, die manchmal bereits als quasikristallin beschreibbar sind, und die Milieueigenschaften beeinflussen die Kinetik der Aufbauprozesse und variieren die Bedeutung der hierbei zu besonderer Geltung kommenden Strukturrichtungen. Dadurch entsteht die Mannigfaltigkeit von Habitus und Tracht, allgemein der äusseren Kristallausbildung, so dass neben den jeder Struktur zukommenden statistisch erfassbaren Hauptgesetzen der äusseren Kristallmorphologie die auf ihre Spezialursachen rückführbare Variation, der Spielraum, verständlich wird.

Von viel grundsätzlicherer Bedeutung war nun jedoch die Frage, ob es bei gegebenem Ausgangsmaterial innerhalb des strukturellen Rahmengesetzes möglich ist, unter Zuhilfenahme relativ weniger und nicht spezielle Kraftgesetze verlangender Annahmen über die Eigenschaften der Bausteine die zu erwartenden Strukturtypen abzuleiten und ihrer Verschiedenheit nach zu gliedern. Ein einfaches Beispiel möge die Problemstellung veranschaulichen. Es seien zweierlei Bausteine, A und B, gegeben, die im Verhältnis 1:1 eine bestandfähige Verbindung ergeben. Ist es möglich, aus der Fülle der denkbaren Kristallstrukturen diejenigen anzugeben, die sich besonders häufig einstellen, und sie durch gleichfalls morphologische Eigenschaften so zu charakterisieren, dass wenige Aussagen über die Bausteine selbst die zu erwartende Zuordnung gestatten? Mit anderen Worten: gelingt es, innerhalb des allgemeinen strukturellen Rahmengesetzes die wirksamen Selektionen zu erkennen und die Beziehungen verschiedener Strukturtypen zueinander abzuklären? Es ist dies in der Tat durchführbar, wobei unter anderem ein Prinzip wegleitend ist, das Symmetrieprinzip, und wobei eine Eigenschaft der Bausteine, das Koordinationsvermögen, in erster Linie eine Rolle spielt. Das Symmetrieprinzip lässt sich wie folgt fassen:

1. Die unter gegebenen Bedingungen und Ausgangsmaterialien höchstmöglichen Anordnungen und Verbandsverhältnisse sind bevorzugt.

2. Eine durch Symmetriequalitäten gekennzeichnete Struktur besitzt innerhalb eines bestimmten Bereiches eine Haltbarkeit oder Persistenz, derartig, dass alle durch isotrope Bedingungsänderungen erzeugten Veränderungen den Grundplan der Symmetrie nicht stören.

Es ist nun durchaus möglich, bei gegebener Koordinatenzahl und gegebenen stöchiometrischen Verhältnissen die Koordinationsschemata, das heisst Bausteine und deren Anordnungsmöglichkeiten ihrer Symmetrie nach zu gliedern, die höchstsymmetrischen herauszugreifen und nach verschiedenen Qualitäten, beispielsweise den Verhältnissen der Teilchenabstände einander in Reihen zuzuordnen. Die Erfahrung bestätigt, dass auf diese Weise tatsächlich die beobachtbaren, idealen Strukturpläne erhalten werden, und dass es oft schon aus den Eigenschaften der Bausteine ableitbar ist, welcher speziellen Struktur die Kristallverbindung angehören wird. Relativ wenige Strukturtypen mit ihren durch besondere Umstände bedingten Abweichungen beherrschen den gesamten Kristallaufbau. Ihre Beziehungen zueinander gestatten Zusammenfassungen verschiedenen Verwandtschafts-

grades, also eine vergleichende Strukturlehre, und führen zu einer Fülle von Fragen, die der Ursachenforschung verpflichtet sind. Was sind die Gründe für rein metrische Änderungen bei gleichem Strukturplan, von Deformationen oder Abweichungen vom Höchstsymmetrischen bei gegebenem Ausgangsmaterial usw.? Unter Benützung der erwähnten Methoden und ihrer Ergebnisse konnte nun von neuem die Frage nach dem Wesen der Kristall- oder Mineralart behandelt werden. Alle Forschungen haben bestätigt, dass im Kristallreich, genau so wie im Reich der Atome und Moleküle oder der Lebewesen, eine diskrete Mannigfaltigkeit besteht. Es kommen bestimmte Aufbauprinzipien in einer angebbaren Variationsbreite zur Geltung. Die Natur ist heterogen, sie enthält verschiedenartige Gebilde, die als neue Einheiten in die wissenschaftlichen Untersuchungen eingehen. In ähnlicher Ausbildung wiederholt sich Gleichartiges und gestattet Generalisierungen und Zusammenfassungen von Individuellem zur gleichen Art. Zur gleichen Kristallart sind zum Beispiel diejenigen kristallinen Konfigurationen zu rechnen, die sich innerhalb der Fehlergrenzen experimenteller Untersuchung phänomenologisch kontinuierlich ineinander überführen lassen oder doch miteinander eine kontinuierlich zusammenhängende Serie bilden, die von anderen trennbar ist.

Der Versuch, die Arten zu charakterisieren, ihre innere Variabilität zu erforschen, die Effekte der Ausseneinflüsse auf die speziellen Eigenschaften zu ergründen, ihre Stellung im Gesamtbild der entsprechenden Disziplin aufzudecken, Auswahlprinzipien zu erkennen, wird so zur Wissenschaft der Kristalle überhaupt. Wiederum sind es die eingangs erwähnten Eigenschaften der Kristalle und die relativ einfachen Beziehungen zwischen Phänotypus und Genotypus (Strukturanlage), welche die Kristall- und Mineralienkunde befähigen, einen Beitrag zur Artenlehre im allgemeinen zu liefern. Es steht fest, dass die Merkmale einer Art innerhalb gewisser Bereiche erhalten bleiben, oder mit anderen Worten, dass es sich um Komplexe zusammengehöriger Erscheinungen handelt, die ein ausgesprochenes Beharrungsvermögen besitzen, eine sich nach aussen und innen manifestierende *Ganzheit, Selbständigkeit* und *Eigengesetzlichkeit.* Bildet sich aus Lösungen, Schmelzen oder Gasen durch Wachstumsprozesse die Kristallart einer bestimmten Strukturanlage, so kann diese sich trotz Änderungen der Bedingungen durchsetzen. Das einmal Gegebene passt sich innerhalb bestimmter Grenzen den veränderten Aussenbedingungen an, ohne den Artcharakter zu verlieren. Diese Anpassung erfolgt nach formulierbaren Prinzipien, beispielsweise bei veränderten chemischen Bedingungen des Milieus, durch Mischkristallbildung in Form von Substitution oder Einlagerung oder in Form gesetzmässiger Ausfallserscheinungen usw. Kommt zum Beispiel FeO eine bestimmte Kristallstruktur zu, so bleibt bei nur leichter Oxydation zu höherer Wertigkeitsstufe der Strukturplan bestehen unter Austritt von etwas Fe bis zum nun wirksamen stöchiometrischen Verhältnis Fe zu O. Ändert die Schmelze oder Lösung, aus der sich ein Kristall bildet, die Zusammensetzung, so findet bis zu bestimmten Grenzen ein Stoffwechsel statt, wodurch sich durch Abgabe und Aufnahme von Bestandteilen der Strukturplan den veränderten chemischen Bedingungen anpasst. Ausgezeichneten Strukturen kommen somit Stabilitäts- und Haltbarkeitsfelder zu, innerhalb deren sie durch oft sehr komplexe Austauschvorgänge ihre Eigengesetzlichkeit bewahren. Ebenso deutlich sichtbar wird diese Eigenschaft bei Druck- und Temperaturänderungen, die zu Lageverschiebungen der Teilchen führen, hiebei aber wiederum innerhalb bestimmter Grenzen die Symmetrie oder das symmetriegemäss Wesentliche des Bauplans bewahren.

Es sei beispielhaft irgendeine Kristallstruktur, zum Beispiel diejenige des trigonal enantiomorphen Quarzes, gegeben. Die Teilchenschwerpunkte, also in diesem Falle die Schwerpunkte der Si- und O-Atome, müssen, damit die Symmetrie resultiert, in bestimmten Lagebeziehungen zueinander stehen. Mathematisch lassen sich die Veränderungsmöglichkeiten der Positionen angeben, die dem Prinzip der Symmetrieerhaltung verpflichtet sind. Beim Quarzkristall zum Beispiel muss die Verschiebung eines O-Teilchens gegenüber einem Si, an das es gebunden ist, Verschiebungen aller O-Teilchen in ganz gesetzmässiger Weise zur Folge haben. In Abhängigkeit von der Lage der Teilchen zueinander kommen bei symmetrieerhaltenden Deformationen diesen nur bestimmte Freiheitsgrade der Lagenänderung zu und ausserdem bestimmte Koppelungen der Verschiebungsvektoren. Beobachten wir nun, dass Quarz in einem relativ grossen Temperatur-Druckbereich trigonal enantiomorph bleibt, sich hierbei ausdehnt oder komprimiert unter deutlich nachweisbaren Änderungen der Gitterkonstanten, Teilchenlagen und Teilchenabstände, so ist das identisch mit der Aussage: *alle Strukturdeformationen werden durch die Grundsymmetrie gesteuert.* Sie erfolgen, anthropomorph gedacht, so als ob sie gezwungen würden, die Symmetrieganzheit zu bewahren. Es ist ihnen normalerweise vorgeschrieben, nur diejenigen Möglichkeiten auszunützen, die den Gesamtcharakter der Symmetrie nicht zerstören. Es kann sein, wie dies beispielsweise gerade beim Quarz zutrifft, dass sich bei Änderungen während des Erhitzens die Teilchen Positionspunkten nähern, die, sobald sie erreicht werden, höhere Gesamtsymmetrie erzeugen. Dann erfolgt (bei Quarz ist dies unter gewöhnlichem Druck bei 573° der Fall) die letzte Änderung sprunghaft und bei weiterem Erhitzen bleibt, unter Herabsetzung des Freiheitsgrades der Lageänderung, diese neue Symmetrie wiederum erhalten. Es hat ein Modifikationswechsel stattgefunden. Somit ist der Kristallraum anisotrop und eigengesetzlich, es kommt ihm (und allen Verbindungen, die wir als solche

studieren können) eine innere *Metrik* zu, die das Gesamtverhalten bestimmt.

Die grössten Triumphe hat diese Erkenntnis in neuester Zeit bei der Durchforschung spektroskopischer Erscheinungen der Molekular- und Kristallchemie gefeiert. Und das ist sehr wichtig, weil es beweist, dass es sich nicht um etwas handelt, das nur mit der Geometrie starrer, durch weitgehende Abstraktion gewonnener Gebilde verknüpft ist. Die spektroskopischen Beobachtungen werden in einem gewissen Bereiche als Effekte von Vibrationen (Bewegungszuständen) innerhalb der Verbindungen, seien sie nun molekularer oder kristalliner Art, zu deuten versucht. Die Erfahrung hat bis heute bestätigt, dass diese Erklärung möglich ist, wenn man von der Annahme ausgeht, auch die Schwingungszustände in einem Teilchenverband seien symmetriebedingt und können normalerweise nur so erfolgen, dass im höheren Sinne die Symmetrie bewahrt bleibt. *Die Symmetrie steuert auch die Schwingungsmöglichkeiten.* Mathematisch handelt es sich um eine sehr interessante Aufgabe, vergleichbar derjenigen, die von der Punkt- zur Raumsymmetrie überführt. Man hat die geometrischen Bedingungen aufzustellen, die von den Schwingungszuständen gefordert werden müssen, damit man sie mit der starren Symmetrie einer Punktkonfiguration als verträglich ansehen darf. Die so formulierbaren Schwingungssysteme zerfallen in Rassen oder Klassen, die einer gegebenen Verbandssymmetrie von Teilchen äquivalent oder isomorph sind, so wie die 230 Raumsysteme den 32 Kristallklassen. Der einmal gebildete Kristall verhält sich somit Bedingungsänderungen gegenüber als etwas Ganzes und erleidet unter Bewahrung der Grundbaupläne *gesteuerte Deformationen.* Ja, selbst wenn einseitige mechanische Beanspruchungen erfolgen, er scheinbar plastisch deformiert wird, geschieht dies vorzugsweise nach Mechanismen, die bewirken, dass grössere Strukturbereiche möglichst ihre Eigenart bewahren.

Entstehen bei derartigen mechanischen Deformationen trotzdem Unstetigkeitsbereiche oder werden diese durch bereits vorhandene Baufehler erzeugt, so haben sie die Tendenz zur Rückbildung der Störungen. Der im Bau gestörte Kristall ist weniger stabil. Es finden Erholungs-, Gesundungs- und Rekristallisationsprozesse, Selbstregulationen statt, sofern es uns zum Beispiel durch Tempern gelingt, die innere, den Platzaustausch und die Neuordnung begünstigende Beweglichkeit zu steigern. Da Kristalle mit primären oder sekundären Baufehlern andere Eigenschaften besitzen als diejenigen, die dem Idealkristalle nahestehen, ist es zu einer wichtigen Aufgabe der Technik (zum Beispiel der Metalltechnik) geworden, zu ergründen, wie sich durch besondere Kristallzüchtung die primären Fehler vermeiden oder durch nachträgliche Behandlung die sekundär erworbenen beseitigen lassen. Die Analogie mit einem ähnlichen Vorgehen in der Biologie ist offensichtlich.

Überblicken wir zum Schluss das Vorgehen in der mineralogischen Wissenschaft, so macht sich ein ständiger und sich gegenseitig befruchtender Wechsel oder *Dualismus* der Betrachtungsweise bemerkbar. Man sucht einerseits die Mannigfaltigkeit des Naturgegebenen durch Ideengesetze oder Aufbauprinzipien zu umreissen und schärfer zu fassen, und wird anderseits durch Vergleich dieser Idealgesetze mit der Wirklichkeit zur Beantwortung immer neuer Fragestellungen mit Hilfe des Experiments und der «kausal» funktionellen Theorien angeregt. Das Suchen nach Gesetzen und Prinzipien, die den Seinszustand in seiner Beharrung und Veränderlichkeit beschreiben, hat öfters Anlass gegeben, den exakten Wissenschaften die beschreibenden gegenüberzustellen. Aber es handelt sich hier ebensowenig um eine blosse Protokollierung oder Beschreibung wie in den dynamischen Gesetzeswissenschaften. Wirklich wesentliche Aufbauprinzipien zu finden, verlangt, wie erläutert, kritische Sichtung und Intuition, das Auffinden einer Idee, einer idealen Vergleichsmöglichkeit, die von vielen Einzelheiten zunächst absehen muss. Auch mit «mehr oder weniger exakt» im üblichen Sinne haben die beiden Betrachtungsweisen nichts zu tun. Nimmt man hiefür die Mathematisierung als Maßstab, so kann ja gerade der Kristallograph zeigen, dass die von ihm gefundenen Aufbaugesetze als Idealgesetze streng mathematisch behandelt werden können. Es sind im allgemeinen nur besondere Zweige der mathematischen Wissenschaften wie Topologie, Vektoranalysis, Geometrie, Gruppentheorie, Matrizenrechnung usw., die er zu benützen hat und die früher in Physik und Chemie weniger bedeutsam schienen als Integral- und Differentialrechnungen. Nun, das hat sich auch in diesen Wissenschaften grundlegend geändert, man könnte fast sagen: Physik und Chemie haben sich in diesem Sinne kristallographisiert, so wie in der Quantentheorie die kristallin-diskontinuierliche Struktur der Materie auf energetische Verhältnisse übertragen wurde.

Erstaunlich bleibt, dass eine Fülle von Einsichten und Zusammenhängen erhalten wurde ohne Einführung der dynamisch-energetischen Betrachtungsweise, lediglich unter Benützung gewisser als morphologisch zu bezeichnender Prinzipien, wie vor allem des Systemprinzips. Man hat die Strukturmöglichkeiten des kristallinen Zustandes und die massgebenden Kristallstrukturtypen ableiten können, ohne die Daten zu besitzen, diese als ausgezeichnete energetische Gleichgewichtszustände zu berechnen. Auch heute noch finden sich in gitterenergetischen Untersuchungen Annahmen, die für einen Strukturtypus höchst unbefriedigend sind, weil der gleiche Typus unter Umständen auftritt, bei denen die angenommenen Voraussetzungen sicher nicht gelten. Damit soll gegen die irgendwie als kausal zu bezeichnende Forschung selbstverständlich nichts eingewendet werden, der Mineraloge benutzt sie ja weitgehend. Aber er sieht aus seiner Wissenschaft

mit grosser Deutlichkeit, dass *beide* Methoden geeignet sind, Fortschritte zu erzielen, dass es rein wissenschaftshistorisch falsch ist, die eine als vorläufig oder weniger wichtig zu erklären als die andere. Sie sind zueinander komplementär, das heisst, sie ergänzen sich. Nicht selten findet man die Bemerkung, dass der Teil der Wissenschaft, welcher von (im erläuterten Sinne) morphologischen Prinzipien ausgeht, nur eine transitorische Rolle spiele. Doch wenn es auch möglich ist, morphologische Gesetze mit Hilfe einer kausalen Betrachtung als Folgen bestimmter Annahmen verständlich zu machen, wird das morphologische Element nie verflüchtigt. Es steckt letzten Endes in der Struktur der Welt, dem heterogenen Aufbau, der Bildung von Gleichartigem, dem Symmetrie- und Polaritätsprinzip, den sogenannten Naturkonstanten, der Tektonik unserer Welt. Man hat den Versuch, aus Beobachtungen, Wahrnehmungen und Wertungen die Wahrheit über die Beschaffenheit der Welt in Form von Ideen, nach denen sie *gebaut* ist, in Erfahrung zu bringen, etwa *Urbildforschung* im Gegensatz zu *Ursachenforschung* genannt.

Der Mineraloge ist nicht der Meinung, dass die eine die andere völlig ersetzen könne; ihm erscheinen beide Betrachtungsweisen *notwendig* zu sein, sich gegenseitig ergänzend. Er selbst bindet im allgemeinen lediglich mehr als der atektonische, reine Ursachenforscher seine Methodik an die vorgegebene Struktur, die Zustandsform- und -gemeinschaft, und entkleidet sie so eines sonst sich leicht einschleichenden Absolutismus. Auch die mehr morphologische Betrachtungsweise, wenn wir sie so nennen dürfen, führt zu Analogien, die Wissenszweige miteinander verbinden, also zu *allgemeinen Prinzipien*, deren Kenntnis ebenso befriedigt wie die Kenntnis dynamischer Gesetze. Dass hierbei bei aller grundsätzlichen Gleichartigkeit in verschiedenen Disziplinen verschiedene Wege und Formulierungen sich aufdrängen, ist selbstverständlich. So wird im Bereich des Kleinsten, zum Beispiel in der Atom- und Kernphysik, die bei Kristallen noch weitgehend mögliche Darstellung durch die gewöhnlichen Anschauungsformen versagen müssen (so wie der Begriff Teilchen und Individualität eine Umdeutung erfährt), und bei komplizierten, der Biologie zugehörigen Individuen erhält der Begriff Ganzheit eine neue Bedeutung. Auch der Biologe wird gut tun, sich über die Erscheinungen im Kristallbereich zu orientieren, die so manche Analogien mit den Tatbeständen seiner Forschungen besitzen, denn nur dann wird die Frage nach dem, was wirklich die Besonderheit der Lebewesen bestimmt, richtig beantwortet werden können.

Summary

The author discusses the governing principles for the world of crystals, and sketches the development of the conception of crystal. The morphological investigations of mineralogists have led, by way of critical ordering and intuition, to principles and laws which make the spatial structure (Raumgitterstruktur) of crystalline material necessary. This working hypothesis was later confirmed by new experimental methods. The author points out the numerous analogies to other natural systems.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

The Rate Constant of the Bimolecular Reaction between Hydrogen Peroxide and Ferrous Ion

It has been shown by Haber and Weiss[1] that the reaction between hydrogen peroxide and ferrous ions can, under certain conditions, be described by the following two consecutive reactions:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH \ (k_1) \quad (1)$$
$$Fe^{2+} + OH \rightarrow Fe^{3+} + OH^- \quad (2)$$

which correspond to the simple stoichiometry:

$$2\,Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow 2\,Fe^{3+} + 2\,OH^- \quad (3)$$

This holds when $([Fe^{2+}]/[H_2O_2]) \geqslant 10^{-1}$, as then the primarily formed OH radicals react only with the ferrous ions and the other reactions of hydrogen peroxide, e.g. those leading to the evolution of oxygen, can be neglected.

[1] F. Haber and J. Weiss, Proc. Roy. Soc. (London) *A 147*, 332 (1934).

In this case, the rate of reaction, in the stationary state, is given by the simple differential equation:

$$-d(Fe^{2+})/dt = d(Fe^{3+})/dt = 2k_1[Fe^{2+}][H_2O_2] \quad (4)$$

corresponding to the bimolecular reaction between hydrogen peroxide and ferrous ions according to equation (1). It is thus possible to measure the rate constant k_1 directly. This constant has been the object of several investigations but up to the present no concordant results have been obtained[1].

More recently, some preliminary measurements have been reported by TAYLOR and WEISS[2], who followed the course of the reaction by measuring the light absorption of the ferric salt produced. This method appeared to be very satisfactory, particularly because the course of the reaction can be followed continuously. The numerical values which were given in this preliminary note[2] are marred by a small error in one of the initial concentrations.

We have now investigated this reaction over a relatively wide range of concentrations and of temperature, and we have also checked the stoichiometry of this reaction.

The course of the reaction was followed by spectrophotometric measurement of the ferric salt formed at $\lambda = 304$ mμ; the instrument used was a "Unicam" spectrophotometer ("S.P.500") which has been modified so that the silica absorption cell (which was also the actual reaction vessel) could be maintained at any desired temperature, in this case in the range from 15° to 40°C. This was achieved by circulating water, from a thermostated tank, at a relatively high rate of flow, around the cells in a specially constructed cell carriage.

Values of the Rate Constant (k_1) at different temperatures and acidity

Concentration of sulphuric acid (normality)	Temperature °C	k_1 (mean) (1 *moles*$^{-1}$ *sec.*$^{-1}$)
0·5	15·1	40·5 ± 2·0
0·8	18·6	48·9 ± 2·5
0·8	19·75	52·8 ± 2·5
0·05	20·6	58·8 ± 3·0
0·8	23·8	64·4 ± 3·0
0·5	25·1	63·4 ± 3·0
0·8	29·1	81·2 ± 4·0
0·8	33·7	102·8 ± 5·0
0·5	35·5	102·5 ± 5·0
0·5	40·0	125·2 ± 6·0

Some of the experimental results are listed in the Table. These have been calculated from the equation:

$$k_1 t = \frac{2 \cdot 3}{(2a - b)} \log \frac{b(a - x/2)}{a(b - x)} \quad (5)$$

where $[H_2O_2]_0 = a$; $[Fe^{2+}]_0 = b$; $[Fe^{3+}]_t = x$; in those cases where $b = 2a$, the time of half change or the time between half and three quarter change was used to determine k_1 according to the equation:

$$k_1 t = \frac{1}{2a}$$

In the present work no difficulty was experienced with regard to the stoichiometry and the ratio $\Delta(Fe^{II})/\Delta(H_2O_2)$ was always found to be 2·0 within the limits of experimental error in agreement with equation (3). Water from three different stills did not affect either the values of k_1 or the stoichiometry.

From the Arrhenius plot it is found that the rate constant can be represented in the temperature range 15° to 40°C, by:

$$k_1 = 1 \cdot 05 \times 10^8 \times \exp.\ (-8460/RT)\ 1 \cdot mole^{-1}\ sec.^{-1} \quad (7)$$

In the range 20° to 25°C this is in closer agreement with the earlier results of BAXENDALE, EVANS and PARK[1] than with the more recent measurements of BARB *et al.*[2].

From equation (7) a value of $E = 8460$ cal follows for the energy of activation: this is rather lower than the values 10100 cal and 9400 cal given by the above named authors[3], respectively, but is in good agreement with the older value of HABER and WEISS (8500 cal) although, in the latter case, there is a difference of about a factor of 2 in the non-exponential factor.

In a very recent publication[4] some values for this rate constant at 18° and 25°C have been reported; these were determined by stopping the reaction with o-phenanthroline and colorimetric determination of the ferrous salt; while the value for 25°C is in good agreement with the value given in this work, that at 18°C is lower by about 20%.

A full account will be published in the J. Chem. Phys.

T. RIGG, W. TAYLOR, and J. WEISS

University of Durham, King's College, Newcastle upon Tyne, 1, England, December 2, 1953.

Zusammenfassung

Die Geschwindigkeitskonstante der bimolekularen Reaktion zwischen Wasserstoffsuperoxyd und Ferroion wurde mittels einer spektrophotometrischen Methode in einem relativ weiten Konzentrationsbereich der Reaktionsteilnehmer und der Azidität gemessen. Im Temperaturintervall von 15 bis 40°C kann die Geschwindigkeitskonstante durch den Ausdruck:

$$k_1 = 1{,}05 \cdot 10^8 \cdot \exp.\ (-8460/RT)\ 1 \cdot mole^{-1} \cdot sec.^{-1}$$

in befriedigender Weise dargestellt werden. Die Aktivierungsenergie (8460 cal) ist in guter Übereinstimmung mit dem früher gefundenen Wert von HABER und WEISS; der Koeffizient der Exponentialfunktion ist etwa doppelt so gross als früher gefunden.

[1] F. HABER and J. WEISS, Proc. Roy. Soc. (London) *A 147*, 332 (1934). – H. J. BAXENDALE, M. G. EVANS, and G. S. PARK, Trans. Faraday Soc. *42*, 155 (1946). – W. G. BARB, J. H. BAXENDALE, P. GEORGE, and K. R. HARGRAVE, Trans. Faraday Soc. *47*, 462 (1951).

[2] W. TAYLOR and J. WEISS, J. Chem. Phys. *21*, 1419 (1953).

[3] H. J. BAXENDALE, M. G. EVANS, and G. S. PARK, Trans. Faraday Soc. *42*, 155 (1946). – W. G. BARB, J. H. BAXENDALE, P. GEORGE, and K. R. HARGRAVE, Trans. Faraday Soc. *47*, 462 (1951).

[4] F. S. DAINTON and H. C. SUTTON, Trans. Faraday Soc. *49*, 1011 (1953).

Nachweis von Kernäquivalenten in Zyanophyzeen

Im Anschluss an den kürzlich mitgeteilten fluoreszenzmikroskopischen Nachweis spiralförmiger Kernäquivalente bei Bakterien *in vivo*[1] wurden nun Zyanophyzeen untersucht, die bekanntlich wie die Bakterien nach klassischer Auffassung als «kernlose» Organismen gelten. Zu den Versuchen wurden Hormogonales vom Typus Oscillatoria und Nostoc herangezogen. Das Material wurde nach Fluorochromierung mit Akridinorange (1:5000) *in vivo* fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Als Fluoreszenzmikroskop diente die grosse Einrichtung von Zeiss-Winkel, die es gestattet, in einem besonderen Filter-Zwischentubus verschiedene Lichtfilter in den Strahlengang zu bringen und zu Sperrfiltern von erforderlicher Durchlässigkeit wahlweise zu kombinieren. Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte mit den Linien $\lambda = 3600$, 4050 und 4350 ÅE des Quecksilber-Höchstdruckbrenners HBO 200 von Osram, bei Verwendung des BG-12-Glases von Schott als Erregerfilter. Als Sperrfilter wurden je nachdem folgende Schott-Gläser benutzt: Das OG 4 + BG 23 als Grünfilter, das (GG 4 +) OG 5 als Orangefilter und das RG 1 als Rotfilter zur selektiven Beobachtung der in verschiedenen Fluoreszenzfarben leuchtenden Zellanteile.

Strahler: HBO 200; Lichtfilter: BG 12–OG 5; Färbung: Akridinorange 1:3000.

Abb. 1. Zyanophyzee, Typ Oscillatoria 1600:1. Haploide Kernäquivalente – Typ A.

Bei Verwendung des RG-1-Glases als Sperrfilter bemerkt man sowohl in unbehandelten als auch in fluorochromierten Zyanophyzeen eine starke feuerrote Fluoreszenz. Diese Primär-Fluoreszenz kommt dem blaugrünen Assimilationspigment, dem Zyanophyll (Chlorophyll a + Phykozyanobilin) zu, welches sich im sogenannten Periplasma der Zellen befindet. Dieses photosynthetische Prinzip weist im Gegensatz zu allen höheren grünen Pflanzenzellen weder Grana- noch Plastidenstruktur auf und scheint auch der Fluoreszenzerscheinung nach zu urteilen ziemlich diffus verteilt zu sein. Bei Verwendung des OG-5-Glases als Sperrfilter erkennt man in dem Periplasma akridinorangetingierter Fäden basophile Grana, sogenannte metachromatische Körperchen (syn. Volutingranula), die in gelblichrotem Farbton leuchten. In den gleichen Zellen ist dann im Zentroplasma hellgrüngelb leuchtend das Kernäquivalent dargestellt, welches meist von polymorpher retikulärer Gestalt ist. Bei Verwendung des Kombinationsgrünfilters OG 4 + BG 23 lassen sich diese Kernäquivalente leuchtendgrün isoliert von den übrigen fluoreszierenden Strukturen betrachten. Bei Oscillatoria speziell konnte dabei je nach der Zellgrösse (als Funktion ihres Fadendurchmessers betrachtet) eine verschieden starke Bestückung mit Kernäquivalenten festgestellt werden (Kernplasmarelation): Dünne Fäden wiesen nur 1 bis 2 stäbchenförmige (spiralige) Äquivalente auf (Abb. 1), dickere dagegen 3 bis 5. Diese sind jedoch nur in wenigen Zellen einzeln auszumachen. Meist bilden sie ein Knäuel (Abb. 3), insbesondere bei zunehmender Anzahl Stäbchen je Zelle, und verquellen auch leicht (Interphasenkern?). Auf diese Weise entsteht oft der Eindruck eines Chromatinretikulums, wie es insbesondere von Poljansky und Petruschewsky[1] beschrieben wurde und welches in der Literatur oft als «Chromidial-Apparat» bezeichnet wird. Für diesen mit basischen Farbstoffen tingierbaren Anteil des Zentroplasmas sind abwechslungsreiche Figuren charakteristisch. Nach eigenen Untersuchungen hat eine Reihe von Formen Kernäquivalente, die vornehmlich zur Längsrichtung des Fadens orientiert sind (Abb. 1). Bei ihnen – Typ A – scheint vor allem die Querteilung der Kernäquivalente durch Fragmentation (wie bei den Bakterien) an der Ausbildung der beschrie-

Abb. 2. Zyanophyzee, Typ Oscillatoria 1600:1. Haplo- und diploide Kernäquivalente – Typ B.

benen Kernformen beteiligt zu sein, da die Äquivalente passiv bei der Ausbildung der trennenden Zellwände durchschnitten werden (vgl. Drawert[2]). Eine Längsteilung ist bei ihnen als Ausnahme zum Erzielen der «Polyploidie» denkbar. Bei anderen Formen (Abb. 2) – Typ B –, die senkrecht zur Fadenachse orientierte Kernäquivalente aufweisen, scheint hingegen lediglich eine Längsteilung vorzukommen, und zwar sowohl zur Vorbereitung auf die Zellteilung als auch zum Erzielen der hier oft verbreiteten «Diploidie». Bei den Nostocazeen schliesslich (Abb. 3) – Typ C – scheint keine bevorzugte Richtung der Äquivalente zur Fadenachse zu bestehen. In ihnen beobachtet man daher bei der Teilung der Äquivalente, die wahrscheinlich als Längsteilung erfolgt, Diastergebilde, die lebhaft an Mitosen höherer Zellen erinnern (Abb. 3, links unten), wenn man in der polyploiden Anordnung der Kernäquivalente eine Garnitur von Chromosomen erblicken will.

[1] A. Krieg, Naturwissenschaften *40*, 414 (1953); Z. Hyg. *138*, 357 (1954).

[1] G. Poljansky und G. Petruschewsky, Arch. Protistenk. *67*, 11 (1929).

[2] H. Drawert, Ber. dtsch. bot. Ges. *63*, 117 (1950).

Bei Anwendung eines anderen Fluorochroms, des Berberins bzw. seines Sulfates, lassen sich *in vivo* die metachromatischen Körperchen selektiv darstellen. Bei Benutzung des OG-5-Glases als Sperrfilter sind sie in leuchtendem Gelb neben der roten Fluoreszenz des Assimilationsapparates zu beobachten; bei Verwendung des Kombinations-Grünfilters (OG 4 + BG 23) erscheinen sie isoliert in grüner Fluoreszenzfarbe. Wenn man von geschädigten oder abgestorbenen Zellen absieht, färbt das Berberin das Kernäquivalent nicht an. Die selektive Speicherung dieses Atmungsgiftes spricht für Chondriosomenäquivalenz dieser Grana. Ähnliche Verhältnisse scheinen bei Bakterien zu herrschen (KRIEG[1]).

Abb. 3. Zyanophyzee, Typ Nostoc. 1600:1. Polyploide Kernäquivalente – Typ C.

Die von BRINGMANN[2] beschriebenen basophilen Grana, in denen der Autor besondere Kernäquivalente erblickt, sind wohl mit den fluoreszenz- wie auch phasenmikroskopisch darstellbaren Granula identisch, nicht aber mit den hier beschriebenen Kernäquivalenten. Für eine isotope Lokalisation von Volutingranula und Kernäquivalent in sogenannten Karyoiden (BRINGMANN) bei Zyanophyzeen spricht keine meiner Erhebungen.

Phasenoptisch sind den Kernäquivalenten zuzuordnende zentrale Aufhellungszonen in Analogie zu den Verhältnissen bei Bakterien zu erkennen. Im Periplasma sind die metachromatischen Granula als dunkle Körnchen zu erkennen.

A. KRIEG

Mikrolaboratorium Zeiss-Winkel, Göttingen, den 16. November 1953.

Summary

In Cyanophyceae (Oscillatoria, Nostoc), it is possible to show a nuclear equivalent system with the use of acridin orange as fluorochrome. The equivalents are rod-shaped and spiral structures respectively, showing a certain arrangement to each other and to the thread-axis (Oscillatoria), or not (Nostoc). Independently of this, equivalents of chondriosomes may be ascertained in the metachromatic granula on using "berberin" as fluorochrome. The granula contrast with the nuclear equivalent in periplasma. In contradiction to BRINGMANN, an isotopic localisation of nuclear equivalents and metachromatic granula could not be confirmed.

[1] A. KRIEG, Naturwissenschaften *41*, 19 (1954).
[2] G. BRINGMANN, Flora *40*, 398 (1952).

Observation by Means of Electron Microscope on the Blood of Subjects Affected with Scarlet Fever

A notable contribution on the problem always open concerning the etiology of scarlet fever has been brought to mind by observations by means of electron microscope.

Recent observations executed by means of electron microscope have put in evidence formations similar to elementary corpuscles on erythrocytes of circulating blood in subjects affected with scarlet fever in the acute stage of the malady (MULÈ[1]).

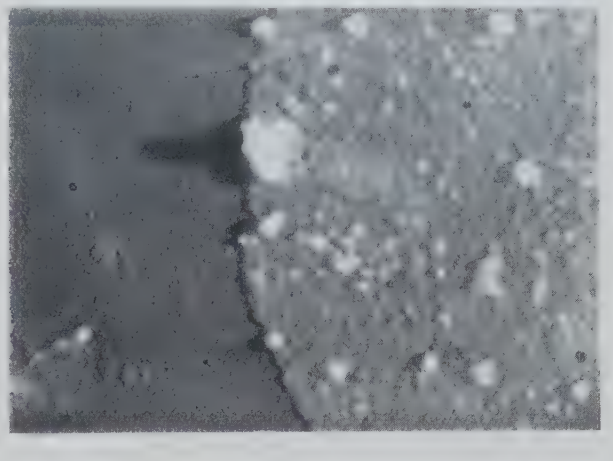


Fig. 1.—Surface of a red blood-corpuscule of a scarlet fever subject withdrawn on the second day of the malady; observation performed after 72 h of incubation. The surface of the red blood-corpuscule appears spread with numerous elementary corpuscles, single and massed (shadows with chromium vapours 18,000 × 1).

In this work it has been proposed to us to extend the previous researches.

The observation was performed directly on the surface of red cells, in cultivation of the blood in nutrient fluids (meat broth containing 10γ of follicular fluid, and relative anaerobiosis with superposition of olive oil).

The experiments were completed by observing the eventual changes visible in the capillaries of the corion-allantoic membrane of embryonated eggs inoculated with the blood culture.

Results. Microphotograph No. 1 represents the surface of a red cell of a subject affected with scarlet fever whose blood was withdrawn the 2nd day of the malady. The observations were performed after 72 h of incubation of the blood in the thermostat. The surface of red cells appears covered with numerous elementary corpuscles isolated and grouped together.

Elementary free corpuscles isolated or grouped, overhanging fluid in the sediment is noted. Such a finding is clearer in the observations on withdrawals performed after 30 days of incubation of blood in thermostat (Fig. 2 and 3).

These corpuscles that we find inside and outside the red cells of blood of scarlet fever patients, are not found in the culture of blood of normal subjects.

With the withdrawals from cultures of thirty days, some chick embryos were inoculated at the 9th day of incubation.

[1] F. MULÈ, La Pediatria *61*, 1 (1953).

In the observation of the corion-allantoic membranes of the injected eggs, after 72 h of incubation, the capillary vessels appear oedematous, swollen, the intercellular spaces are augmented so as to render possible the exit of the red cells from the vessels.

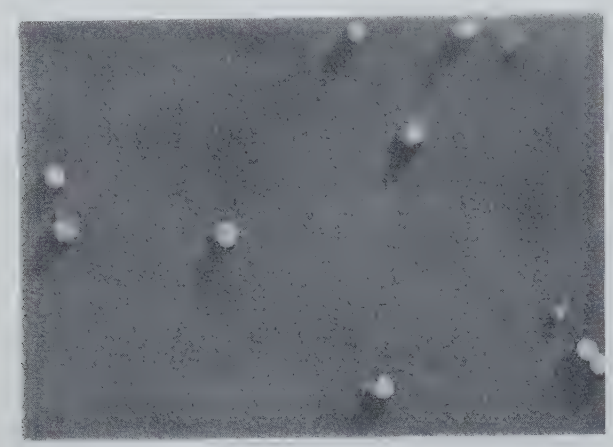


Fig. 2.

The findings to which the most essential data refer are reproducible in sets: on the surface of the red cells of blood of scarlet fever subjects in the acute stage of the malady, we obtained findings somewhat more variable than those in microphotograph No. 1. Nevertheless in the observation performed on the blood cultures, essentially similar findings were obtained in numerous cases.

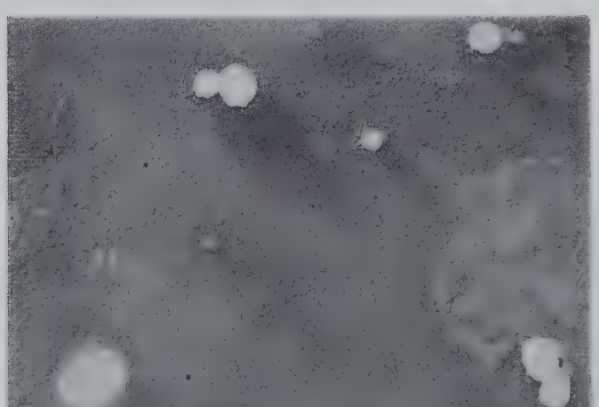


Fig. 3.

Fig. 2/3.—From the culture of blood of scarlet fever subject withdrawn the second day of the malady, observation performed after thirty days of incubation in thermostat. Numerous elementary single corpuscles of the same (Fig. 3) and different size (Fig. 4), are noted (shadows with chromium vapours 18,000 × 1).

The changes of the capillaries of the corion-allantoic membranes of chick embryos infected with cultures of blood of scarlet fever subjects can be reproduced by inoculating the allantoic fluid of these embryos in the allantoic cavity of other embrionated eggs.

Considerations. The morphological aspects of a pathogenic agent barely visible to the optical microscope can be studied only by means of the electron microscope.

From the analysis of results obtained in the performed experiments, it follows that the elementary corpuscles observed for the first time by Di Cristina, Caronia, and Sindoni[1] in culture of blood from scarlet fever subjects can clearly be demonstrated in the electron microscope.

If there be any relations between the adult element visible to the optical microscope and the streptococcus, they do not appear from our observations.

I wish to express my thanks to the Superior Institute of Health in Rome for the hospitality accorded to me for the execution of the researches reported here.

F. Mulè

Institute of 1st Pediatric Clinic and of Infectious Diseases, University of Rome, February 16, 1954.

Riassunto

È stato eseguito uno studio al microscopio elettronico su culture di sangue di ammalati affetti da scarlattina. Sono stati osservati dei corpuscoli elementari sulla superficie dei globuli rossi ed al di fuori di essi.

Nelle membrane corion allantoidee delle uova inoculate con le culture di sangue di scarlattinosi, i capillari appaiono ademato si, rigonfi, gli spazii intercellulari sono aumentati così da rendere possibile la fuoriuscita dei globuli rossi.

I risultati di questi esperimenti sono riproducibili in serie.

[1] G. Di Cristina, La Pediatria *31*, 1 (1923). – G. Caronia and M. B. Sindoni, La Pediatria *31*, 745 (1924).

Darkfield Microscopy of Living Neurosecretory Cells

During a study of the transport of secretory material in the axons of the neurosecretory cells of the blow-fly, *Calliphora erythrocephala*, it was found that the neurosecretory material could be seen in the living axons when using darkfield illumination (E. Thomsen[1]). This observation prompted us to examine whether neurosecretory material could also be observed in the pericaryon of the neurosecretory brain cells.

The two medial groups of neurosecretory cells, situated in the pars intercerebralis of the protocerebrum, are recognizable in the living adult fly by their bluish white colour (E. Thomsen[2]). These cell groups were exised, together with as small and thin a sheet of the surrounding brain tissue as possible, and were then examined in Ringer's solution in the darkfield using Zeiss' darkfield equipment.

Figure 1 shows a photograph of the two groups taken with a Zeiss "Phoku" camera. The neurosecretory cells

[1] E. Thomsen, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *24*, suppl., 48 (1954); J. Exp. Biol. 1954 (in press).

[2] E. Thomsen, Nature *161*, 439 (1948); J. Exp. Biol. *29*, 137 (1952).

stand out very clearly in contrast to the adjacent tissue. The dark spot in the centre of the cells represents the nucleus, and the number of cells in each group is about 8–10. The diameter of the cells is 20–24 μ. In the photograph the neurosecretory cells appear white on

Fig. 1.—The two medial groups of neurosecretory cells (white) surrounded by other brain cells (grey). 120 ×.

account of their content of numerous refractive granules or spheres, visible in some of the cells of Figure 1 and more clearly in Figure 2. On direct observation in the darkfield microscope the granules show a bluish tinge. These granules correspond in appearance to those observed in sections of the neurosecretory cells when stained with the chrome-hematoxylin phloxin stain of Gomori, and there can hardly be any doubt that they

Fig. 2.—Neurosecretory cells with refractive spheres (= aggregates of granules). *tr* trachea. 240 ×.

are identical. This observation was briefly mentioned in a paper read to the first International Symposium on Neurosecretion held in Naples in May 1953 (M. Thomsen[1]).

Using an oil-immersion objective (100 ×) it is seen that what appears as granules with a lower magnification are in fact aggregates of very small particles, about 0·4 μ in diameter, but probably somewhat varying. These particles are most easily demonstrated in the axons of the neurosecretory cells (Fig. 3), while (in the photographs) they are difficult to distinguish in the pericaryon owing to its thickness. At present it cannot be decided whether all granules observed represent "the neurosecretory material" or if part of them are mitochondria

Fig. 3.—A single neurosecretory cell filled with refractive granules, separately visible in the proximal part of the axon (right). 1000 ×.

and other elements. Our finding is in accordance with the observation by Passano[1], who examined the X-organ cells of the crab *Sesarma* with phase-contrast microscope; he states that the cytoplasmic spheres are in reality "spheroid systems" composed of small granules (0·3 μ). Carlisle[2] has observed the proximo-distal movement of "droplets, granules, spherical systems, and mitochondria" in the living X-organ connective of the crustacea *Dromia* and *Lysmata*.

Considering the discussion on the nature of the cytoplasmic inclusions characteristic of the neurosecretory cells, it is of some importance that such structures are not only demonstrable in fixed and stained preparations but are visible in the living neurosecretory cells and their axons.

Ellen Thomsen and M. Thomsen

Zoological Laboratory of the Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, January 18, 1954.

Zusammenfassung

In anderen Arbeiten von Ellen Thomsen wurde gezeigt, dass neurosekretorisches Material in lebenden Axonen der neurosekretorischen Zellen von *Calliphora* mit Dunkelfeldmikroskopie beobachtet werden konnte. Im Dunkelfeld sieht man ebenfalls, dass die Pericarya der lebenden neurosekretorischen Zellen der beiden medialen Gruppen in der Pars intercerebralis mit refraktilen Körnern gefüllt sind, die den in Schnittpräparaten mit Chrom-Hämatoxylin dargestellten ganz ähnlich sind. Diese Beobachtungen zeigen die Naturtreue des fixierten Präparates. Durch Anwendung von Ölimmersion konnte festgestellt werden, dass die genannten "Körner" von kleineren Partikelchen (0,4 μ) zusammengesetzt sind, entsprechend den mit Phasenkontrast beobachteten «spheroid systems» in X-Organzellen von Krustazeen (Passano, Carlisle).

[1] M. Thomsen, Pubbl. Staz. Zool. Napoli 1954 *24*, suppl., 46 (1954).

[1] L. M. Passano, Anat. Record. *112*, 460 (1952).

[2] D. B. Carlisle, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *24*, 435 (1953).

Quelques remarques sur l'anisotropie de l'épicuticule de poils animaux

En 1948, les travaux de Lindberg, Philip et Gralén[1] ont mis en évidence l'intérêt de l'épicuticule de la fibre de laine qui est caractérisée par une résistance extraordinaire aux agents chimiques et aux enzymes. Jusqu'ici, cette résistance n'a pas été expliquée de manière satisfaisante. En général, on conçoit que la résistance chimique d'un matériel à poids moléculaire élevé augmente avec la densité de la structure, donc avec le degré d'orientation des molécules.

Fig. 1. Laine traitée à l'eau bromée saturée, vue entre nicols croisés; la direction de la fibre est parallèle au polariseur (grossissement 500 ×).

Or, en étudiant la composition chimique de cette épicuticule[2], nous avons pu démontrer qu'elle consiste intégralement en kératine; cependant, ce fait seul ne nous explique pas sa grande résistance chimique. Dans cette notice, nous apportons la preuve que la structure de l'épicuticule offre un degré d'orientation élevé.

En raison de la petite épaisseur de l'épicuticule (100 à 200 Å), les mesures de la biréfringence au matériel isolé sont très difficiles. Une mesure directe en laissant intacte la fibre est également impossible à cause du petit espace séparant l'épicuticule du cortex. Ce dernier a un rayonnement très fort qui absorbe les rayons provenant de l'épicuticule. Nous avons donc fait usage de la réaction d'Allwörden, qui consiste dans la réaction de l'eau bromée avec la fibre. Par cette réaction il se forme des bulles dont la paroi est constituée par l'épicuticule qui s'est détachée du cortex.

Lorsqu'on étudie au microscope polarisant une fibre avec une bulle qui par rapport à la direction des rayons lumineux se trouve sur le côté de la fibre, le parcours de la lumière à travers le matériel de l'épicuticule est plus long à certains endroits qu'à d'autres. Or, nous avons trouvé qu'entre les nicols croisés une partie de la paroi de la bulle s'éclaircit. Quand l'axe de la fibre fait un angle de 45° avec les directions principales des nicols, le cortex laisse passer la lumière – ce qui est connu – mais en même temps, il en est de même dans la partie de la paroi qui est parallèle à l'axe de la fibre dans un plan perpendiculaire à la direction des rayons lumineux. Quand l'axe de la fibre est parallèle à la direction principale d'un des nicols, le cortex reste noir, mais on voit de la lumière dans les parties de la paroi de la bulle qui font un angle de 45° avec l'axe de la fibre dans le plan de l'image (Fig. 1).

[1] J. Lindberg, B. Philip et N. Gralén, Nature *162*, 458 (1948).
[2] G. J. Schuringa, J. Isings et A. J. Ultée jr., Biochim. Biophys. Acta *9*, 457 (1952). – G. J. Schuringa, C. J. Schoonenveldt et A. J. Ultée jr., Biochim. Biophys. Acta *9*, 506 (1952). – A. J. Ultée jr., C. J. Schoonenveldt et G. J. Schuringa, Biochim. Biophys. Acta *10*, 590 (1953).

Pour étudier si l'orientation des molécules dans l'épicuticule est parallèle à l'axe de la fibre, on devra faire varier l'angle entre l'axe de la fibre et les rayons lumineux, qui dans le premier essai était de 90°. C'est ce que nous avons réalisé en enroulant le poil sur une baguette de verre. En faisant varier le pas de la spirale, on modifie l'angle entre l'axe de la fibre et la direction des rayons lumineux (Fig. 2). De cette manière nous avons trouvé que la biréfringence est maximale pour une certaine valeur de l'angle entre l'axe de la fibre et le rayon lumineux. D'un poil à l'autre, cette valeur oscille entre 15° et 75°. Pour un poil donné, la valeur est constante.

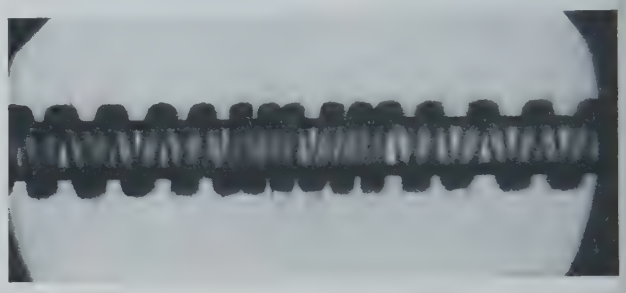


Fig. 2. Réaction d'Allwörden effectuée sur une fibre de laine enroulée sur une baguette de verre.

Ces observations nous ont menés à la conclusion que les molécules sont orientées en spirale. Le pas de la spirale moléculaire varie de poil en poil, n'est pas constant pour les poils d'une espèce animale donnée ni même pour les poils d'un individu donné. Nous avons cru d'abord à la possibilité d'une biréfringence de tension. Cependant, comme nous admettons une orientation des molécules en spirale, il nous semble que cette explication peut être exclue.

On pourrait aussi supposer une polarisation par réflexion. Dans ce cas, on devra s'attendre à observer de la lumière quand la fibre fait un angle de 45° avec les nicols croisés. Cette explication ne peut pourtant être maintenue parce que dans ce cas on ne devrait pas trouver une direction privilégiée de l'axe de la fibre, comprise entre 15° et 75°.

Comme la biréfringence est toujours négative dans la paroi aussi bien que dans le cortex, et vu la grande analogie de constitution chimique entre ces deux couches, nous croyons donc pouvoir conclure que l'orientation des molécules correspond à celle que donne l'extinction entre les nicols croisés. Faisant usage de la terminologie *S–Z* qui est en emploi dans l'industrie textile pour indiquer le twist d'un fil, nous dirons que la spirale a constamment la direction *Z*. Nous ne savons pas encore comment expliquer les différences de pas des spirales.

G. J. Schuringa et J. Isings

Vezelinstituut T.N.O., Delft, le 20 décembre 1953.

Summary

With the aid of the polarizing microscope it could be shown that the epicuticle is birefringent.–The orientation of the molecules in the epicuticle is not parallel to the fibre-axis, the angle varies from 15–75°. This indicates a spiral structure being present in this membrane.

Unterschiedliche Wirksamkeit der 180-keV- und 31-MeV-Strahlen auf die Letalität von C 57-Mäusen

Im Rahmen unserer Untersuchungen über den biologischen Effekt des 31-MeV-Betatrons prüften wir auch die letale Wirkung an Mäusen. Vergleichende biologische Experimente erfordern kritisches Vorgehen, das sämtlichen Gesichtspunkten, biologischen wie physikalischen, gerecht wird. Wichtig ist vor allem eine exakte Dosisbestimmung unter den gleichen Bedingungen wie beim biologischen Versuch. Von grosser Bedeutung ist ferner die Wahl der Dosis, die biologisch sein muss, das heisst nicht zu klein (ohne sichtlichen Effekt), aber auch nicht zu gross (nach Überschreitung eines Schwellenwertes). Da viele biologische Strahlenschädigungen gleichsam automatisch ablaufen, wird eine unterschiedliche Wirkung verschiedener Agentien kaum ersichtlich, sobald eine Maximaldosis überschritten ist.

Methode. Wir bestrahlten insgesamt 60 C 57-Mäuse (50. Generation ingezüchtet), alle im Alter von 3 Monaten und einem Gewicht von 20 ± 1 g. Grössere Variationen im Gewicht scheinen nicht erlaubt zu sein, da sich nach QUASTLER[1] der Röntgeneffekt umgekehrt proportional zum Körpergewicht verhält, also deutlich abhängig ist. Die Mäuse wurden mit Mäusebiskuit *ad libitum* gefüttert. In jeder Versuchsserie befanden sich je 6 Weibchen. Nach den bisherigen Erfahrungen verhalten sich beide Geschlechter in bezug auf den Strahlentod gleich.

Bestrahlt wurde in einem Plexiglasphantom mit auswechselbaren Platten, von denen eine mit drei Vertiefungen und Luftlöchern zur Aufnahme der Mäuse versehen war. An die Stelle des Bestrahlungsgefässes kann eine Platte zur Aufnahme der Messkammer eingeschoben werden. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist, waren dem Bestrahlungsgefäss bei der Bestrahlung mit 31 MeV 33 mm Plexiglas vorgeschaltet, damit sich die Tiere annähernd im Maximum der Tiefendosiskurve befinden. Das Strahlenfeld für die Betatronbestrahlung ist weitgehend homogen, bei der 180-keV-Bestrahlung beträgt der Dosisabfall (Zentrum–Aussenpunkt) 2%. Bestrahlt wurde im Mittel mit 827 *r* (31 MeV, 23,2 r/min, Feldgrösse, Kreis mit 15 cm Durchmesser) und 806 r (180 keV, 6 mA, 1 mm Cu, 22,2 r/min, Feldgrösse, Kreis von 40 cm Durchmesser). Gemessen wurde im Phantom mit einem Victoreen-Condenser-r-Meter (250 r) und während der Bestrahlung gleichzeitig in der sogenannten Nebenstrahlkammer.

Letalitätseffekt der beiden Strahlenarten. Wie aus Abbildung 2 und der Tabelle hervorgeht, tritt der erste Todesfall nach 180-keV-Bestrahlung am 6. Tag ein, nach der Betatronbestrahlung am 7. Tag. Nach einem anfänglich gleichen Verlauf der Überlebenskurve zeigt sich vom 11. Tag an eine deutliche Trennung, indem nun bedeutend mehr 180-keV-Tiere sterben als 31-MeV-Bestrahlte. 24 Tage überleben die Betatronbestrahlung 37% der Tiere, die 180-keV-Strahlung nur 10%. Der Unterschied in der Zahl der Überlebenden nach 24 Tagen ist mit einem χ^2 von 5,94 auffällig und liegt nahe P = 0,01.

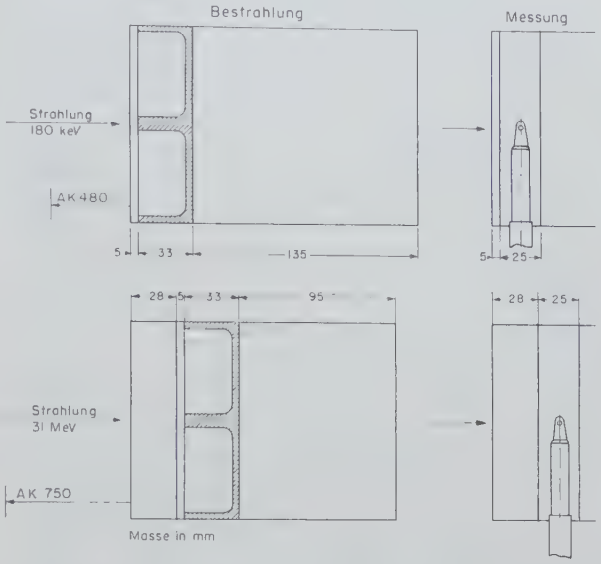


Abb. 1. Versuchsanordnung im Plexiglasphantom für 180-keV-Bestrahlung (oben) und 31-MeV-Bestrahlung (unten). Während der Bestrahlung (links) befinden sich die Mäuse in einem auswechselbaren Plexiglasgefäss (schraffiert). An seine Stelle wird bei der Messung (rechts) eine Platte zur Aufnahme des Victoreen-Messgerätes eingeschoben. Vor Bestrahlungs- und Messplatte befinden sich bei 180 keV 5 mm, bei 31 MeV 33 mm Plexiglas.

Es sterben nicht nur weniger Tiere nach Betatronbestrahlung, sondern auch, wenn sie sterben, etwas später als nach 180-keV-Bestrahlung.

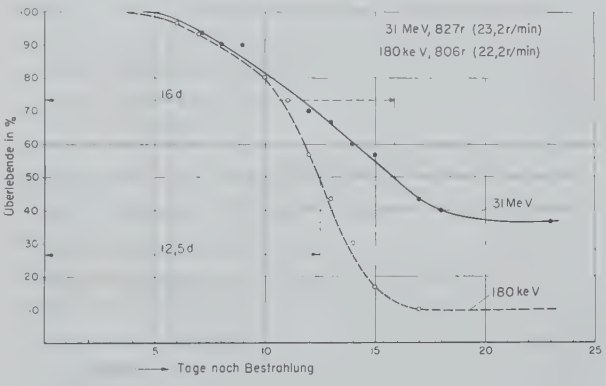


Abb. 2. Überlebenskurve von Mäusen (C 57) nach Bestrahlung mit einer Dosis von 827 r, 31 MeV und 806 r, 180 keV. Abszisse: Tage nach Bestrahlung. Ordinate: Überlebende in %. Bestrahlt wurden in beiden Versuchen je 30 Mäuse.

Qualitatives Verhalten. Nach 31-Mev- und 180-keV-Bestrahlung verhalten sich die Mäuse gleich. Nach der

[1] H. QUASTLER, Amer. J. Roentgenol. *54*, 457 (1945).

Zeitpunkt und Anzahl der Todesfälle nach Totalbestrahlung mit 180 keV und 31 MeV

Tage nach Bestrahlung	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	Total Todesfälle
180 keV	1	1		1	3	2	5	4	4	4	-	2		-	-	-			-	27
31 MeV	-	2	2			4	1	1	2	1	–	4	1	–	–			1		19

ersten Schockreaktion erholen sie sich und zeigen bis zum 5.–7. Tag nach Bestrahlung keine Änderung im Gehaben, ausser einer gewissen Indifferenz gegenüber der Umgebung. Dann treten äusserlich erkennbare Schädigungszeichen auf: Mattigkeit, Gewichtsverlust, struppiges Fell und Diarrhöe. Der Strahlentod scheint für beide Strahlenarten gleich zu verlaufen. Wird die kritische Zeit von 7 bis 23 Tagen überstanden, scheinen die Tiere normal weiterzuleben, jedoch ohne viel an Gewicht zuzunehmen (keine weiteren Todesfälle 6 Monate nach Betatronbestrahlung und 3 Monate nach 180 keV). Bei den Überlebenden tritt nach beiden Bestrahlungen (180 keV und 31 MeV) eine Ergrauung des schwarzen Fells ein, die arealweise einsetzt und nach 1–2 Monaten auf den ganzen Körper übergreift.

Diskussion. Im Gegensatz zu den Versuchen von Joyet[1] (Vergleich 400 keV und 31 MeV) konnten wir eine schwächere Wirksamkeit der gleichen mit Victoreenkammer gemessenen Dosiseinheit in r bei 31-MeV-Strahlen gegenüber 180-keV-Strahlen feststellen. Joyet benützte allerdings höhere r-Dosen, die nach unserer Ansicht einen gewissen Schwellenwert überschritten haben und für vergleichende Betrachtungen nicht tunlich sind. Bei steigender Dosis verläuft die Dosiseffektkurve zusehends flacher, und eine Erhöhung der Dosis von 1700 auf 2500 r scheint auf den Eintritt des Todes keine zusätzliche Wirkung mehr auszuüben. Mit der Dosis von 800 r in unsern Versuchen haben wir wahrscheinlich den Schwellenwert beinahe erreicht, und bereits vorgenommene Experimente mit niedrigeren Dosen zeigen an, dass sich der Unterschied im biologischen Effekt der ultraharten und der 180-keV-Strahlen mit abnehmender Dosis zusehends verschärft.

Die Feststellung einer geringern biologischen Wirksamkeit des Betatrons deckt sich mit den Resultaten, die wir aus Experimenten zur Feststellung der Mitosenrate der Wurzelspitze von *Vicia faba*, der Mutationsrate bei *Drosophila*, der Mitosenrate des Ehrlich-Karzinoms der weissen Maus, der Letalität von 4-h- und 7-h-Eiern von *Drosophila* (Fritz-Niggli[2]) und einer Phänokopie bei *Drosophila* (Fritz-Niggli)[3] gewonnen haben. Ebenso stimmen sie mit den Versuchen von Quastler[4], der mit 20 Mev und 200 keV Mäuse bestrahlte, überein (Dosis 700–2000 r).

Eine Ursache dieser unterschiedlichen Wirkung kann die eventuell nicht wirklichkeitsgerechte Messung der ultraharten Strahlen mit Luftionisationskammern sein. Gleichzeitig muss aber auch die Art des Strahlentodes diskutiert werden, die bei verschiedenen Dosen unterschiedlich ist. Anscheinend wirken die ersten Schädigungen der sogenannten Initialperiode (siehe Zusammenstellung Curtis[5]), wie Zirkulationsstörungen, erhöhte Permeabilität und Fragilität der Gewebe, zelluläre Zerstörungen, Lymphopenie und gastrointestinale Beschwerden durch Bestrahlungsdosen unter einem Schwellenwert von 850 r bis 900 r nicht unmittelbar tödlich. Der Tod, der erst einige Tage später einsetzt und dem hohes Fieber und schneller Puls vorangehen, wird wahrscheinlich durch eine allgemeine Infektion und Toxaemie verursacht. Bei höheren Dosen hingegen müssen bereits die primären Störungen zum Tode führen.

Ob eine unterschiedliche Dosis Betatron- und 180-keV-Strahlen in den einzelnen Organen der Maus von Bedeutung ist, kann vor einer eingehenden Analyse des inneren Dosismusters einer totalbestrahlten Maus nicht abgeklärt werden. Vor diesen Untersuchungen und vor allem vor einem eingehenden qualitativen Studium des Strahlentods der Maus können wir der Tatsache der geringeren Wirksamkeit der Betatronstrahlen keine Erklärung beifügen.

Hedi Fritz-Niggli

Strahlenbiologisches Laboratorium des Röntgeninstituts der Universität Zürich, den 18. Januar 1954.

Summary

Mice were subjected to irradiation of the whole body with a homogeneous dose of 31 MeV and 180 keV roentgen rays. A quantitative evaluation of effectiveness was obtained, using the survival time of mice (between irradiation and death). The 180 keV rays were more effective than the 31 MeV rays.

[1] G. Joyet, W. Mauderli und E. Roesch, Brown-Boveri-Mitt., Sonderheft 1953, S. 56.

[2] H. Fritz-Niggli, Brown-Boveri-Mitt., Sonderheft 1953, S. 60; Fortschr. Geb. Röntgenstr. *80*, 28 (1954).

[3] H. Fritz-Niggli, Schweiz. med. Wschr. *81*, 1218 (1951).

[4] H. Quastler, Amer. J. Roentgenol. *54*, 723 (1945).

[5] H. J. Curtis, *Advances in Biological and Medical Physics II* (Academic Press Inc., New York 1951), S. 1.

Über die quantitative Bindung von Ribonukleinsäure mit Gallozyaninchromalaun[1]

Den spezifischen und quantitativen färberischen Nachweismethoden beider Nukleinsäuren (NS.) hat man seit den grundlegenden ultraviolettmikroskopischen Untersuchungen von Caspersson[2] und seinen Mitarbeitern erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt. Während eine Differentialfärbung der Nukleinsäuren mit der Methylgrünpyroninfärbung und der Fermentbehandlung (Brachet[3]) heute keine Schwierigkeiten mehr bietet, ist eine quantitative und spezifische Färbung der NS. immer noch ein schwieriges Problem. Der quantitative und qualitative Wert der Feulgen-Reaktion und Methylgrünfärbung (Kurnick[4]) für Desoxyribonukleinsäure ist nicht unbestritten geblieben (siehe Sandritter[5]). Für viele basische Farbstoffe wurde eine quantitative Verbindung mit NS. vermutet (Michaelis[6], Kelley[7]). Aber lediglich Herrmann[8] *et al.* haben in jüngster Zeit für Toluidinblau die stöchiometrische Verbindung mit Ribonukleinsäure (RNS) nachweisen können.

Wir haben in früheren Untersuchungen[9] den Farbstoff Gallozyaninchromalaun (GC.), dessen progressiver Färbungscharakter erhebliche Vorteile bietet, für quantitative Untersuchungen benutzt. Einarson[10] hat in ausgedehnten Untersuchungen den hohen qualitativen und quantitativen Wert dieser Färbung für beide NS. wahrscheinlich machen können, jedoch nicht den exakten Beweis geliefert.

[1] Ausgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[2] T. Caspersson, *Cell Growth and Cell Function* (W. W. Norton, New York 1950).

[3] J. Brachet, C. r. Soc. Biol. (Paris) *133*, 88 (1940); Arch. Biol. *53*, 207 (1941).

[4] N. B. Kurnick und A. E. Mirsky, J. gen. Physiol. *33*, 265 (1950).

[5] W. Sandritter, Z. Wiss. Mikr. (im Druck).

[6] L. Michaelis, Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. *12*, 131 (1947).

[7] E. G. Kelley, J. Biol. Chem. *127*, 55 und 73 (1939).

[8] H. Herrmann, J. S. Nicholas und J. K. Boricious, J. Biol. Chem. *184*, 321 (1950).

[9] W. Sandritter, Frankf. Z. Path. *63*, 387 (1952); Z. Wiss. Mikr. *61*, 30 (1952).

[10] L. Einarson, Acta Path. Scand. *28*, 82 (1951).

Wir stellten es uns zur Aufgabe, die stöchiometrische Verbindung von GC. mit NS. zunächst *in vitro* nachzuweisen. Zu den Versuchen wurde RNS. der Firma Böhringer verwendet. Es handelt sich um ein grauweisses Pulver mit einem Phosphorgehalt von 7,58%. Papierchromatographisch liessen sich im HCl-Hydrolysat keine Aminosäuren nachweisen.

Zum Nachweis der quantitativen Bindung zwischen GC. und RNS. wählten wir verschiedene Wege.

1. *Filtrierpapiermethode mit Extraktion des Farbstoffes.* Als Stammlösung diente eine 5%ige Lösung von RNS. in 1 m Natriumazetat. Fallende Konzentrationen (5–0,25%) wurden in Tropfen von je 0,1 ml auf Filtrierpapierstreifen (Schleicher und Schüll, Selekt 2043b) von 8 × 2 cm Grösse aufpipettiert. Die Papierstreifen wurden bei Zimmertemperatur getrocknet und anschliessend in Färbeküvetten 48 h mit GC. gefärbt. Die Farblösung wurde nach Einarson hergestellt (pH 1,64). RNS. ist in der Farbstofflösung nicht löslich. Nach der Färbung wurden die Papierstreifen 72 h in grösseren Mengen öfters gewechselten A. dest. gewässert. Ein Kontrollstreifen wurde jeweils mitgeführt. Anschliessend wurden die Papierstreifen einzeln in je 20 ml 1/10 nHCl eingelegt und nach 48 h die ausgezogene Farbe durch eine Glasfritte 1Gl Schott filtriert. Die im Papier verbliebenen Farbstoffreste wurden durch Erhitzen in 1/10 nHCl extrahiert. Die Lösungen wurden auf 30 cm³ aufgefüllt und im Pulfrich-Photometer bei 570 mμ Wellenlänge die Extinktion bestimmt. In früheren Untersuchungen hatten wir das Absorptionsmaximum des Farbstoffes festgelegt[1]. Als Leerwert wurde die aus den leeren Papierstreifen gewonnene Farblösung benutzt. Die unspezifische Anfärbung des Filtrierpapiers ist nur sehr gering.

2. *Filtrierpapiermethode mit direkter Tropfenphotometrie.* Die Menge des gebundenen Farbstoffes kann wesentlich einfacher durch direkte Photometrie der gefärbten Tropfen bestimmt werden. Die Papierstreifen wurden wie oben mit 0,01 ml RNS. beschickt und gefärbt. Das Filtrierpapier wurde mit einer Mischung aus Paraffinöl und α-Bromnaphthalin aufgehellt. Die Durchlässigkeit der Farbflecke wurde in unserem Ultraviolettmikrospektrographen bestimmt. Als Beleuchtung diente statt der Quecksilberhöchstdruckdampflampe eine Niedervoltlampe mit vorgeschaltetem Schottfilter (570 mμ Wellenlänge). Die Streifen wurden mittels einer Spezialvorrichtung vor dem Projektionsprisma angebracht.

3. *Direkte Färbung im Reagenzglas.* Wie in den ersten Versuchen wurden fallende Konzentrationsreihen verwendet. 0,1 ml der RNS.-Lösung wurde in einem Zentrifugenglas mit 8 ml GC. durchmischt, 48 h gefärbt, dann 30 min bei 2500 Umdrehungen zentrifugiert und vorsichtig dekantiert. Der Bodensatz wurde mehrmals mit 10 ml A. bidest. aufgeschüttelt und wieder zentrifugiert, bis die Waschflüssigkeit keinen Farbstoff mehr enthielt. RNS. konnte in der Waschflüssigkeit nach maximaler Einengung im Exsikkator mit Lanthanchlorid nicht nachgewiesen werden. Der gefärbte Bodensatz wurde mit 2 m Harnstoff durch Aufkochen gelöst, auf 30 ml aufgefüllt und im Pulfrichphotometer gemessen.

Ergebnis. Schon allein die Betrachtung der gefärbten Filtrierpapierstreifen zeigt, dass mit steigender Konzentration der aufgetropften RNS.-Lösung die Anfärbung der Tropfen stärker wird. Die geringste im Tropfen noch fassbare Menge ist 2 γ RNS. in 0,01 cm³ Natriumazetat (0,02%ige Lösung). Wie Abbildung 1 zeigt, nimmt mit steigender Konzentration der RNS. die Extinktion des jeweils gebundenen Farbstoffes linear zu. Da der Farbstoff GC. in den hier in Frage kommenden Konzentrationen dem Lambert-Beerschen Gesetz folgt, ist damit die quantitative stöchiometrische Bindung des GC. an RNS. bewiesen. Wir sind der Ansicht, dass es sich hierbei um eine elektrostatische Adsorption handelt, eine salzartige Bindung zwischen der negativen Ladungsgruppe der Nukleinsäure und dem positiv geladenen Farbstoffmolekül GC.

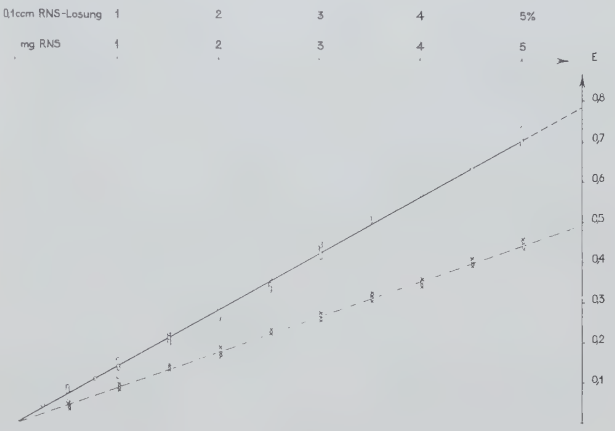


Abb. 1. Graphische Darstellung der Extinktionswerte bestimmter, mit Gallozyaninchromalaun angefärbter RNS.-Konzentrationen. —— Polymerisierte RNS. – – – – Depolymerisierte RNS.

Diese quantitative Farbbindung ist auch noch nach Depolymerisation der RNS. im Wasserbad (6 h bei 100° C) nachzuweisen (Filtrierpapierversuche). Die Extinktionswerte liegen allerdings wesentlich niedriger (Abb. 1). Bei der Depolymerisation entstehen demnach Bruchstücke der RNS., die den Farbstoff nicht mehr binden können. Es müssen aber auch grössere Komplexe vorhanden sein, die eine Farbstoffanlagerung erlauben.

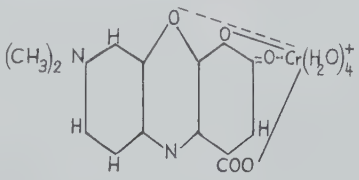


Abb. 2. Strukturformel des Gallozyaninchromalaun-Moleküls nach Einarson.

Wir haben versucht, das Verhältnis der Phosphoratome zu den GC.-Molekülen zu bestimmen. Das GC.-Molekül enthält wie Abbildung 2 zeigt, 2 Stickstoffatome. Wir bestimmten im Kjeldahl die Stickstoffmenge einer GC.-Lösung bestimmter Konzentration mit bekanntem Extinktionswert. Vergleicht man die Extinktionswerte dieser GC.-Lösungen mit den entsprechenden Konzentrationen RNS., deren Gehalt an Phosphor bekannt ist, so ergibt sich für die polymerisierte RNS. ein Verhältnis der GC.-Moleküle zu RNS.-Phosphoratomen wie 1:15,2, das heisst auf 15,2 P-Atome kommt ein GC.-Molekül. Für depolymerisierte RNS. (siehe Abbildung 1) errechneten wir auf 22,8 Phosphoratome 1 Molekül GC.

Diese Versuche haben gezeigt, dass sich GC. mit RNS. quantitativ verbindet. Im Gewebe sind aber die Phosphorsäuregruppen der NS. mit Eiweisskörpern verbunden, so dass die Farbstoffanlagerung möglicherweise ganz oder zum Teil verhindert wird. Hammarsten und

[1] W. Sandritter, Z. Wiss. Mikr. *61*, 30 (1952).

Teorell[1] haben nachgewiesen, dass *in vitro* kleinste Proteinmengen die Anfärbung der NS. maskieren können (Versuche mit Malachitgrün, Methylviolett u.a.). Entsprechende eigene Versuche mit GC. haben gezeigt, dass selbst bei relativ hohen Konzentrationen von Eiweisskörpern (2,5% RNS. mit 5% Albumin) die Anfärbung der RNS. nicht gestört wird. Das stark positiv geladene GC.-Molekül hat eine weitaus stärkere Affinität zur RNS. als die Eiweisskörper und verdrängt vielleicht sogar die Eiweisskörper aus ihrer Bindung mit der Nukleinsäure, wie dies zum Beispiel von Lanthan bekannt ist. Im histologischen Schnitt scheinen ähnliche Verhältnisse zu bestehen. Es ist zudem anzunehmen, dass die Bindung zwischen Eiweisskörpern und Nukleinsäure durch die Fixation so weit gelockert wird, dass die Phosphorsäuregruppe der NS. frei wird und dem Farbstoffmolekül zur Verfügung steht.

Die Frage des spezifischen Charakters der GC.-Färbung und der quantitativen Verbindung mit Desoxyribonukleinsäure soll in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

W. Sandritter, H. Diefenbach und F. Krantz

Aus dem Senckenbergischen Pathologischen Institut der Universität Frankfurt am Main, den 11. Januar 1954.

Summary

It is shown that the dye gallocyaninchromalum combines quantitatively with ribonucleic acid. 1 molecule gallocyanin is equivalent to approximately 15 phosphorus atoms. The quantitative combination *in vitro* is not disturbed by proteins.

[1] E. und G. Hammarsten und T. Teorell, Acta Med. Scand. *68*, 219 (1928).

Observations on the Nucleic Acids During the Development of the Lethal Hybrid *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra atra* ♂[1]

The view that the nucleic acid content is closely related to the morphogenetic activity has drawn support from cytochemical and microphotometrical studies during the development of various organisms. Recently evidence has been cited that the developmental failure in amphibian lethal hybrids is primarily due to an interruption in the synthesis of nucleic acid[2]. Like most of the interspecific crosses between anurans[3], the hybrids obtained by fertilizing *Triton palmatus* eggs with *Salamandra atra* sperms are lethal and their development is arrested at the late blastula or the early gastrula[4]. By means of the Feulgen reaction and Unna's methyl green-pyronin mixture, approaches were made by Baltzer and Schönmann[5] to estimate the nucleic acid content in the embryonic cells of such lethals. Their results showed that the hybrid cell is poor in desoxyribonucleic acid (DNA) while its amount of ribonucleic acid (RNA) is normal[6]. Obviously a more accurate method is needed in order to give a definite answer to this problem. Therefore further efforts have been made by subjecting the lethal hybrid *T. palmatus* ♀ × *S. atra* ♂ to microphotometrical analysis. The present report deals with quantitative measurements of RNA and DNA at different developmental stages of both hybrids and controls.

Eggs taken out of the oviduct of *T. palmatus* females, which had been treated previously with gonadotropic hormone, were partly inseminated with *S. atra* sperms (*pat* hybrid) and partly with sperms of the same species (*pp* control). Both types of eggs were kept at 18°C until the desired stages were reached. For assaying the nucleic acid content, the microphotometrical method of Ogur and Rosen[1] was used. Briefly, each egg was fixed in 96% ethyl alcohol and then treated twice with 10% trichloracetic acid for at least half an hour in the refrigerator. After washing again in alcohol it was treated with tetrahydrofuran under reflux for 4 h. The extraction of RNA was made in 3 cm³ of 5% perchloric acid at room temperature for 20 h and that of DNA at 70°C for 40 min. The nucleic acid content in the egg extract was finally determined by the Beckman spectrophotometer at 220–280 mμ.

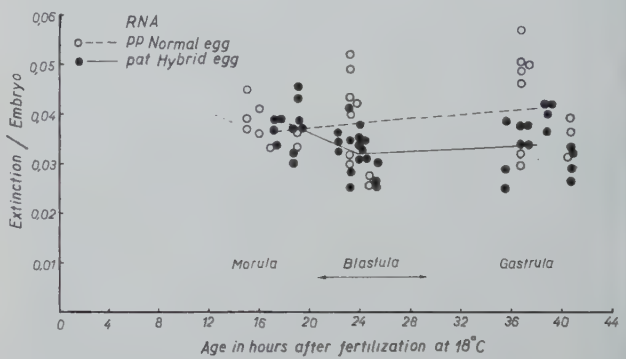


Fig. 1.—Content of RNA during the early development of *Triton palmatus* and the lethal hybrid *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra atra* ♂.

Very recently the method of Ogur and Rosen for the determination of nucleic acid in amphibian eggs was critisized by Sze[2]. According to him the value given by this method is too high, probably due to the presence of other disturbing substances. We have standardized the method with a solution of pure nucleic acid (Hoffmann-La Roche, Basel). A concentration of 54 γ/cm³ gave an extinction of 1·39 units. The RNA content in the early gastrula of the controls has a value of 4·78 γ/embryo. Taking the size of the egg into consideration, this value is essentially in accordance with that obtained by Steinert[3] in *Rana esculenta*, but apparently too high compared with the DNA content given by Sze[4] for *Rana pipiens*. However, in this work the hybrid and the control eggs were measured under identical conditions and the technical error inherent in the method can be considered as insignificant.

The extinction values at 260 mμ are presented graphically in Figures 1 and 2. We shall consider first the changes of RNA and DNA in the *pp* controls. From the morula to the early gastrula there is a hardly detectable increase of RNA. This is in agreement with the observations by Steinert[3] in anurans. According to

[1] This work was supported by a grant from the Karl-Hescheler-Stiftung.

[2] J. Brachet, Symp. Soc. Exp. Biol. *6*, 173 (1952).

[3] J. Brachet, Ann. Soc. Zool. Belg. *75*, 49 (1944). – J. A. Moore, J. Exp. Zool. *101*, 173 (1946).

[4] W. Schönmann, Roux' Arch. *138*, 345 (1938).

[5] F. Baltzer and W. Schönmann, Rev. suisse Zool. *58*, 459 (1951).

[6] F. Baltzer, Symp. Soc. Exp. Biol. *6*, 230 (1952).

[1] M. Ogur and G. Rosen, Arch. Biochem. *25*, 262 (1950).

[2] L. C. Sze, J. Exp. Zool. *122*, 577 (1953).

[3] M. Steinert, Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 549 (1951).

[4] L. C. Sze, J. Exp. Zool. *122*, 577 (1953).

him, the increase of RNA does not become significant until gastrulation. The picture is, however, different for DNA. The amount of this substance increases rather rapidly from the late cleavage to the middle blastula stage, and afterwards it rises only slightly until the early gastrula. In their study of the DNA content in *Rana temporaria* eggs, Hoff-Jorgensen and Zeuthen[1] found that the synthesis of this acid begins at the late blastula stage and continues at a lower rate during gastrulation. According to the present result, it seems that the synthesis of DNA begins earlier in *Triton palmatus* than in *Rana temporaria*. The early increase of DNA is understandable because, as pointed by Brachet[2], there is a steady increase of the cell nuclei during segmentation and the Feulgen reaction becomes more intense at later developmental stages. Kutsky[3] and Sze[4] also reported that there is a steady increase of DNA during the development of *Rana pipiens*. The latter author further demonstrated that the increase of the cell number is higher before gastrulation. This fact affords an explanation of why the DNA content increases from the morula to the blastula.

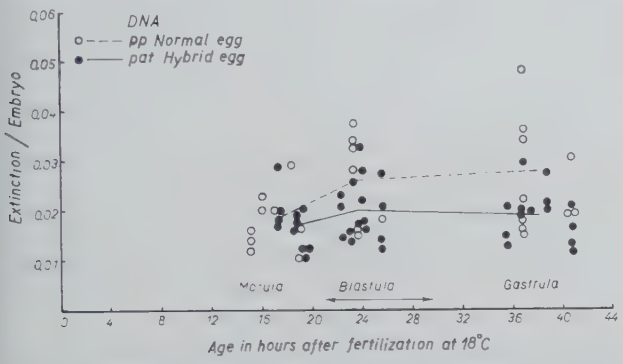


Fig. 2.—Content of DNA during the early development of *Triton palmatus* and the lethal hybrid *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra atra* ♂

Let us now turn to the nucleic acid contents in the *pat* hybrid. The microphotometrical measurements revealed that at 18 h after fertilization the syntheses of RNA and DNA are equally efficient in the two types of embryos. Hereafter the average values of the hybrids become apparently lower than those of the controls[5]. It should be mentioned that Steinert[6] recorded a similar drop of the RNA content at the later development of the lethal hybrid *Rana esculanta* ♀ × *Rana temporaria* ♂. However the tendency of the RNA reduction in the present case obviously occurs earlier than that in the anuran hybrid. The curve in Figure 2 also indicates that in the *pat* hybrid there is a slight increase of DNA up to 24 h, although it never reaches the amount of this substance in the controls. In other words, the trend of the curve indicates that the DNA synthesis in the lethal hybrid is reduced but by no means entirely stopped.

Cytologically, the lethal hybrid first shows abnormal mitoses at the late blastula stage (critical phase, ca. 23–29 h after fertilization[7]). We have seen that it is exactly at this period that the synthesis of nucleic acid becomes effectively blocked. During segmentation, so far as the cytological picture shows, the lethal hybrid has a normal development. Its slight increase of DNA at the early development is therefore understandable.

The drop of the nucleic acid content is apparently only one of the many damaging effects in the lethal hybrid. For instance there have been recorded several studies showing that the rate of oxygen uptake is lower in the lethal hybrid than in the control[1]. Since our knowledge concerning the mechanism of nucleic acid synthesis is still highly hypothetical, it would be unwise in this place to discuss at length the ultimate cause which leads to the nucleic acid reduction in such lethal embryos. Brachet[2] has put forward the idea that the introduction of a foreign sperm into the egg causes a breakdown of the synthesis of cytoplasmic ribonucleoprotein which is normally under the control of the nucleus. In order to clarify the situation, more critical studies of the nucleo-cytoplasmic relationship in such hybrid materials are badly needed.

The author is indebted to Prof. Dr. E. Hadorn for his interest in this investigation and to Mr. C. Zeller for his advice concerning the technical part.

P. S. Chen

Institute of Zoology and Comparative Anatomy, University of Zurich, January 18, 1954.

Zusammenfassung

Der Gehalt an Ribonukleinsäure und Desoxyribonukleinsäure der normalen Tritoneier (*T.palmatus*) und der letalen Bastardeier (*T.palmatus* ♀ × *S.atra* ♂) wurde im Morula-, Blastula- und Gastrulastadium mikrophotometriert. Bei normalen Eiern wurde keine wesentliche Änderung des Ribonukleinsäuregehaltes festgestellt. Hingegen nahm die Konzentration der Desoxyribonukleinsäure von der späten Morula bis zur mittleren Blastula deutlich zu und zeigte dann bis zum Gastrulastadium nur geringe Zunahme.

Während der Furchung ist der Nukleinsäurengehalt der Bastardeier normal. Die mittlere Blastula (kritische Phase: etwa 24 h bei 18°C) ist aber gegenüber den Kontrollkeimen bedeutend ärmer an beiden Nukleinsäuren. Eine leichte Zunahme der Desoxyribonukleinsäure vor der kritischen Phase, ohne jedoch die Konzentration eines normalen Eies zu erreichen, wurde beobachtet. Die entwicklungsphysiologische Deutung der vorliegenden Befunde wird diskutiert.

[1] F. Hoff-Jorgensen and E. Zeuthen, Nature *169*, 245 (1952).
[2] J. Brachet, Symp. Soc. Exp. Biol. *6*, 173 (1952).
[3] P. B. Kutsky, J. Exp. Zool. *115*, 429 (1950).
[4] L. C. Sze, J. Exp. Zool. *122*, 577 (1953).
[5] The differences in RNA between control and hybrid eggs are statistically significant at both blastula and gastrula stages. The same is true for DNA at the gastrula stage.
[6] M. Steinert, Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 549 (1951).
[7] W. Schönmann, Roux' Arch. *138*, 345 (1938).

Some Observations on Carotenoid Synthesis by the Alga *Chlorella vulgaris*

Very little is known about the occurrence or biosynthesis of carotenoids in *Chlorella* spp. Strain[1] states that *Ch. pyrenoidosa* contains α-, β-, and ε-carotenes, lutein, violaxanthin and neoxanthin, and Myers[2] found that *Ch. vulgaris* when grown in the dark produced the same chlorophylls and probably the same mixture of caro-

[1] H. H. Strain in *Manual of Phycology* (Waltham Chronica Botanica Co., 1952).
[2] J. Myers, Plant Physiology *15*, 575 (1940).

tenoids as when grown in the light. Spoehr and Milner[1] report that increasing the *R* value (degree of reduction) of the culture medium reduces considerably the chlorophyll and, to a lesser extent, the carotenoid synthesis.

The experiments reported here were carried out to determine quantitatively and qualitatively the carotenoids synthesised by *Ch. vulgaris* when grown under comparable conditions in the light and dark.

The alga, obtained from the Type-culture collection of the Botany School, Cambridge, was cultured statically at 25° in 100 ml conical flasks containing 25 ml of the following medium:– KNO_3 0·025 g, $MgSO_4$. $7H_2O$, 0·027 g, KH_2PO_4, 0·02 g, glucose 1·0 g, peptone 0·5 g, and water 100 ml. Inoculation was with 1 ml of a 5–7 day old culture grown in the light on the same medium. The cultures were kept in a thermostatically controlled water bath, either in a tin (dark) or continually exposed at a distance of 20–30 cm to 2 × 80 W. fluorescent "daylight" tubes.

The cultures were harvested and the pigments extracted using a method devised by Goodwin and Jamikorn (1954). Using the usual criteria of identification[2], the following carotenoids were found in both light and dark cultures:– β-carotene, lutein, violaxanthin (in traces), and neoxanthin. The relative amounts of these pigments present were the same in light and dark cultures namely β-carotene 10%, lutein and violaxanthin 75–80%, and neoxanthin 10–15%. These results indicate a very close pigment relationship between our *Ch. vulgaris* and the *Ch. pyrenoidosa* examined by Strain[3], the only difference being that no ε-carotene could be found in the former. Furthermore, these observations also add evidence to support the generalization[4] that although members of the Chlorophyceae tend to resemble green leaves in their carotenoid distribution, their xanthophyll mixture is much less complicated than that of green leaves, which contains at least 15 components[5].

The quantitative results given in the accompanying table show that under our experimental conditions growth is complete in both light and dark cultures after 14 days and that the amount of growth in the dark is only about 1/6 that obtained in illuminated cultures. Furthermore, although pigment production is of the same order in illuminated and non-illuminated young cultures, in old cultures there is relatively much more pigment in dark than in light cultures. The difference is quite obvious visually, and must also involve chlorophyll synthesis, old light cultures being a very faint green whilst old dark cultures are dark green. In some experiments (not recorded here), this difference was obvious even after 21 days. The carotenoid concentration continues to increase in the fully grown dark cultures, and eventually becomes higher than the maximal values obtained in light cultures. The reason for these results is not known, but it is probably that the continous illumination destroys the pigments in the fully grown cultures. The concentrations recorded in the Table, for both the total carotenoids and β-carotene, fall within the limits recorded for a number of fresh water Chlorophyceae[1].

Action of diphenylamine. Turian[2] found that diphenylamine inhibited carotenoid synthesis in *Mycobacterium phlei*, and this has been further demonstrated in *Phycomyces blakesleeanus*[3] and *Rhodospirillum rubrum*[4]. Experiments with this inhibitor showed that *Ch. vulgaris* was very sensitive to it, growth being completely inhibited at a concentration of 1/280,000. This extreme sensitivity to diphenylamine has also recently been noted in another green alga *Haematococcus pluvialis*[5]. On the other hand, the bacteria and fungi just listed, grow normally on a concentration of 1/35,000–1/70,000 although pigment synthesis is considerably inhibited.

T. W. Goodwin

Department of Biochemistry, University of Liverpool, 3, England, December 10, 1953.

Zusammenfassung

Wird *Chlorella vulgaris* in einem Medium, das Glukose, Pepton und Mineralsalze enthält, gezüchtet, so synthetisiert sie sowohl in Licht wie im Dunkeln β-Carotin, Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin. Das Wachstum im Dunkeln beträgt jedoch nur $^1/_6$ von demjenigen im Licht. Die Carotinoide verschwinden aus alten Lichtkulturen, werden aber in alten Dunkelkulturen weiter synthetisiert. Diphenylamin hemmt das Wachstum dieses Organismus bei einer Konzentration von 1/280 000 vollständig.

[1] H. A. Spoehr and H. W. Milner, Plant Physiology *24*, 120 (1949).

[2] T. W. Goodwin, Biochem. J. *50*, 550 (1952).

[3] H. H. Strain in *Manual of Phycology* (Waltham Chronica Botanica Co., 1952).

[4] T. W. Goodwin, *The Comparative Biochemistry of the Carotenoids* (Champan & Hall, London, 1952).

[5] H. H. Strain, *Leaf Xanthophylls* (Carnegie Inst., Washington, 1938).

[1] H. H. Strain, *Leaf Xanthophylls* (Carnegie Inst., Washington, 1938). – A. Seybold and K. Egle, Jb. Wiss. Botan. *86*, 50 (1938). – A. Seybold, K. Egle, and W. Hulsbruch, Botan. Arch. *42*, 237 (1941).

[2] G. Turian, Helv. chim. Acta *33*, 1988 (1950).

[3] T. W. Goodwin, Biochem. J. *50*, 550 (1952).

[4] T. W. Goodwin and H. G. Osman, Biochem. J. *53*, 541 (1953).

[5] T. W. Goodwin and M. Jamikorn, Biochem. J. (in the Press).

Carotenoid synthesis by *Ch. vulgaris*.
(Amounts produced in 25 ml medium in 100 ml conical flasks: Temperature 25 °.)

Light Cultures				Dark Cultures				
Age of Culture (days)	Dry weight mg	Total Amount (μg)	Carotenoids Conc. (mg/100 g dry weight)	β-Carotene as % of total pigments	Dry weight (mg)	Total Amount (μg)	Carotenoids Conc. (mg/100 g dry weight)	β-Carotene as % of total pigments
7	21·0	10·7	51	8·5	4·7	7·0	15	13·8
14	57·3	60·0	105	10·4	11·7	8·9	76	6·4
21	58·3	65·2	112	6·7	10·5	21·4	204	11·8
28	68·7	52·1	76	10·0	9·4	17·4	185	10·7

Rôle of the Nucleus in the Maintenance of the Protein Level in the Alga *Acetabularia mediterranea*

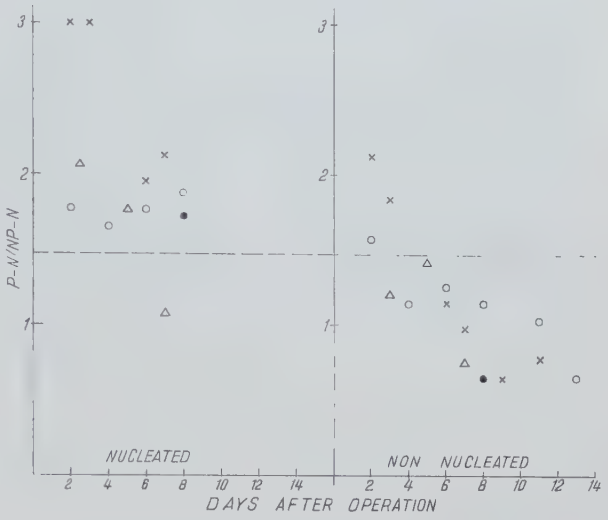
Brachet and Chantrenne[1] have shown that a difference in the uptake of labelled CO_2 by the proteins of the nucleated and non-nucleated regenerating segments of *Acetabularia mediterranea* can first be noticed 2 weeks after the operation, i.e. at the time when regeneration in non-nucleated segments ceases. It was also found[2] that the lowering of the ability to incorporate CO_2 into the proteins is more pronounced in the small cytoplasmic granules than in the chloroplasts. These observations were paralleled by the finding[3] that during a first period after the operation no difference could be detected in the amount of protein-N between nucleated and non-nucleated regenerating algae. It was by the end of the second week that a decrease was observed in the latter, while the former showed a steady increase.

On this last point, however, my observations are somewhat at variance as they seem to indicate that a decrease of protein-N in non-nucleated segments of *Acetabularia mediterranea* is already noticeable during the first week following the operation.

The experiments were performed on batches of *Acetabularia mediterranea* obtained from the Zoological Station, Naples. "Erdschreiber" solution was used as a culture medium for both normal and regeneration algae. Before the analysis, the algae were rapidly rinsed in distilled water and then homogenised with cold 5% trichloro-acetic acid. Protein and non-protein-N (P-N and NP–N) were estimated in the insoluble and soluble fractions respectively by direct nesslerization after combustion. The results were calculated as the ratio between protein-N and non-protein-N (P–N/NP–N), which was considered to be a much better reference than wet or dry weight or length of the algae, which may be liable to undergo changes independently of the regeneration process.

The results of the experiments are summarized in the above diagramm. The curve shows that in both nucleated and non-nucleated segments an increase of the ratio P–N/NP–N occurs during the first day following the operation. In the following days this ratio undergoes a decrease, which is, however, much greater in the non-nucleated than in the nucleated algae. In fact, while in the latter the values slowly approach the mean value for normal algae ($1{\cdot}47 \pm 0{\cdot}078$), in the former already during the 3rd–4th day they are well below it. The decrease goes on slowly until the 13th day, when the observations were discontinued. In one experiment, marked by × in the diagramm, the values for P–N/NP–N were considerably higher than in the other experiments during the first day after the operation. Also in this case, however, in the non-nucleated segments they were well below those of the nucleated ones.

These experiments seem to indicate the presence in *Acetabularia mediterranea* of some proteins the maintenance of which is strongly influenced by the nucleus. Possibly they are the most metabolically active ones. Also in *Amoeba* a decrease of dipeptidase has been observed following enucleation, while proteinases did not show any appreciable change[1].



Values of the P–N/NP–N ratio in nucleated and non-nucleated regenerating segments of *Acetabularia mediterranea*. Various symbols refer to the experimental series. Dotted line indicates the mean values for normal algae.

The present work has been supported by a grant of the Rockefeller Foundation to the Institute of Comparative Anatomy of the University of Palermo.

G. Giardina

Department of Comparative Anatomy, University of Palermo, February 18, 1954.

Riassunto

Sono state studiate le variazioni del rapporto tra l'N proteico e non proteico in segmenti rigeneranti, nucleati ed anucleati, di *Acetabul. medit.* I risultati ottenuti hanno dimostrato che il predetto rapporto aumenta in entrambi i segmenti il primo giorno dopo l'operazione. Nei giorni seguenti esso diminuisce in entrambi i segmenti, ma più sensibilmente in quelli anucleati, nei quali va al di sotto del valore medio delle alghe normali già dopo il 3°–4° giorno.

[1] J. Brachet, H. Chantrenne, *Protein Synthesis in Nucleated and Non-Nucleated Halves of Acetabularia Mediterranea Studied with Carbon-14 Dioxide*, Nature *168*, 950 (1952).

[2] J. Brachet and H. Chantrenne, *Incorporation de C14.02 dans les protéines des chloroplastes et des microsomes de fragments nucléés et anucléés d'Acetabularia mediterranea*, Arch. int. Physiol. *60*, 547 (1952).

[3] F. Vanderhaeghe, *Mesures de croissance de fragments nucléés et énucléés d'Acetabularia mediterranea*, Arch. int. Physiol. *60*, 190 (1952).

[1] E. Urbani, *La teneur en dipeptidase et en protéinase de fragments nucléés et énucléés d'amibes*, Arch. int. Physiol. *60*, 190 (1952).

Heterologe Transplantation von Tumoren nach Vorbehandlung der Wirtstiere mit radioaktiven Isotopen

Tumoren mit einer bestimmten Tierspezies können mit der in der Tumorforschung üblichen Transplantationstechnik nicht auf eine andere Spezies übertragen werden. Murphy[1] zeigte jedoch schon 1914, dass auf Ratten implantierte Mäusetumoren während einer gewissen Zeit weiterwuchsen, wenn diese Ratten mit einer Röntgenganzbestrahlung vorbehandelt wurden. In der letzten Zeit wurden diese Versuche bestätigt[2].

[1] J. Murphy, J. amer. med. Assoc. *62*, 1459 (1914).

[2] H. W. Toolan, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *77*, 572 (1951). – W. Bollag und Cl. Meyer, Oncologia (im Druck).

Im folgenden wird über die erfolgreiche heterologe Transplantation eines Mäusetumors auf junge Ratten, die mit radioaktiven Isotopen vorbehandelt wurden, berichtet[1].

Methodik. Wir verwendeten das Crocker-Sarkom der Maus, das wir in Form von etwa 1 mm³ grossen Stücken auf junge Albinoratten von 50 g Gewicht subkutan transplantierten. Als Mass der Tumorgrösse diente uns das Produkt aus den beiden grössten Durchmessern des Tumors.

P^{32} wurde als Lösung von Na_2HPO_4 intraperitoneal injiziert. Au^{198} wurde als kolloidales Präparat teils intravenös, teils intraperitoneal appliziert. 16 Ratten erhielten je 0,125 mC P^{32} in 0,25 cm³ Lösung intraperitonäal injiziert. Je 8 Ratten wurden am 1. bzw. 11. Tag nach der P^{32}-Injektion mit dem Crocker-Sarkom der Maus implantiert. 16 Ratten wurde eine Injektion von je 0,75 mC Au^{198} in 0,23 cm³ Lösung intravenös und weiteren 16 Ratten dieselbe Dosis intraperitoneal verabreicht. Bei je 8 Ratten aus beiden Versuchsgruppen wurde die Heterotransplantation 1 bzw. 5 Tage nach der Injektion durchgeführt.

Resultate. Die Resultate dieser Experimente sind aus der Tabelle ersichtlich.

Mittelwerte der maximalen Tumorgrösse von je 8 auf gleiche Weise behandelten Ratten.

Vorbehandlung	Maximum der Tumorgrösse in mm² (Länge × Breite)
Kontrollen	51
P^{32} *i.p.*	
Heterotransplantation:	
1 Tag nach Injektion	142
11 Tage nach Injektion	253
Au^{198} i.p.	
Heterotransplantation:	
1 Tag nach Injektion	88
5 Tage nach Injektion	256
Au^{198} i.v.	
Heterotransplantation:	
1 Tag nach Injektion	109
5 Tage nach Injektion	150

Das Maximum der Tumorgrösse wurde bei allen behandelten Tieren zwischen dem 8. und 12. Tag nach der Transplantation erreicht. Bei allen mit radioaktiven Isotopen vorbehandelten Ratten wächst der Maustumor stärker als bei den Kontrollen. Bei grösserem Intervall zwischen Injektion von P^{32} oder Au^{198} und der Heterotransplantation entwickelt sich der Tumor besser als bei kurzem Intervall. Nach intraperitonealer Goldinjektion entwickelt sich der heterolog transplantierte Tumor (bei fünftägigem Abstand zwischen Injektion und Implantation) besser als nach intravenöser Goldapplikation. Die Resultate zeigen, dass bei Behandlung der Wirtstiere mit recht verschiedenen Strahlungsarten die Heterotransplantation ermöglicht wird. P^{32} ist ein reiner β-Strahler, während Au^{198} ein gemischter β-γ-Strahler ist. Ferner kann bei verschiedenster Verbreitung und Lokalisation der radioaktiven Isotope im Wirtsorganismus die Entwicklung des heterologen Tumors erfolgen. P^{32} wird besonders von Knochen, Knochenmark, Lymphdrüsen, Leber, Milz, Niere und in geringem Masse von den meisten Geweben des Körpers aufgenommen. Kolloidales Au^{198} wird bei intravenöser Applikation fast ausschliesslich vom retikuloendothelialen System gespeichert. Bei intraperitonealer Verabreichung bleibt Au^{198} weitgehend in der Peritonealhöhle liegen[1]. Die unterschiedliche Wachstumstendenz der Tumoren nach Vorbehandlung der Wirtstiere mit verschiedenen radioaktiven Isotopen, bei verschiedener Applikation und bei verschieden langem Intervall zwischen Injektion und Heterotransplantation erklärt sich wahrscheinlich durch die verschiedenartige Hemmung der Abwehrkräfte des Wirtsorganismus gegen den heterologen Tumor.

W. Bollag und Cl. Meyer

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 25. Januar 1954.

Summary

The investigation deals with the successful heterologous transplantation of the Mouse Crocker-Sarcoma on young rats, that were pretreated with the radioactive isotopes P^{32} and Au^{198}. The growth tendency of the tumours varies according to the character of the radioactive isotope, the mode of administration and the interval between the injection of the radioactive substance and the heterotransplantation.

[1] Die Arbeit erscheint *in extenso* in der Zeitschrift *Oncologia*.

[1] J. H. Müller, Gynaecologia *129*, 289 (1950).

Sulfhydryl Groups and Succinic Dehydrogenase in Rat Kidney after Administration of Mercurial Diuretics

Histochemical Studies

Recently we reported[1] that, when blue tetrazolium (BT) is used as a histochemical indicator, the administration of mercurial diuretics to rats inhibits the succinic dehydrogenase activity in kidney cells, particularly in the cells of Henle's loops. By biochemical means, Handley and Lavik[2] previously demonstrated a fall in the total succinic dehydrogenase activity in rat kidney after administration of mercurials.

Sulfhydryl groups are essential for the normal activity of succinic dehydrogenase. That the diuretic effect of mercurials, which combine with sulfhydryl groups, is attributable to the sulfhydryl-requiring enzymes seems probable since it is abolished by the administration of BAL, containing two sulfhydryl groups[3]. The object of this study was to investigate whether the administration of mercurial diuretics influences the histochemically demonstrable sulfhydryl groups in rat kidney.

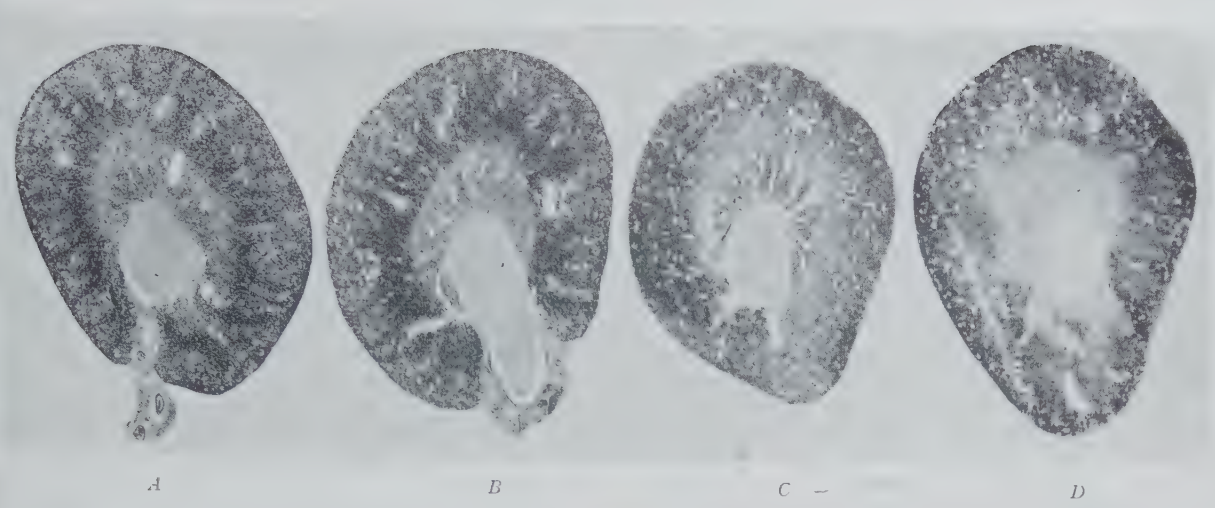
Novurit "Medica" (39·5% Hg) was subcutaneously or intramuscularly administered in doses of 10 to 50 mg Hg/kg of body weight to 50 albino rats of the Wistar strain weighing 175–225 g. The rats were killed by decapitation 2–6 h after the administration of Novurit. In the demonstration of protein-bound sulfhydryl groups the method of Barrnett and Seligman[4] was followed. The reagent, 2,2′-dihydroxy-6,6′-dinaphtyl disulfide, when used in excess at pH 8·5, reacts with

[1] K. K. Mustakallio and A. Telkkä, Science *118*, 320 (1953).

[2] C. A. Handley and P. S. Lavik, J. Pharmacol. Exp. Therap. *100*, 115 (1950).

[3] R. F. Pitts and O. W. Sartorius, Pharmacol. Rev. *2*, 161 (1950).

[4] R. J. Barrnett and A. M. Seligman, Science *116*, 323 (1952).



A Distribution of –SH groups in normal rat kidney. Section treated according to BARRNETT and SELIGMAN. *B* The same after administration of Novurit (20 mg Hg/kg). *C* Distribution of succinic dehydrogenase activity in normal rat kidney using BT as indicator. Section thickness 80 μ. *D* Succinic dehydrogenase activity after administration of Novurit (20 mg Hg/kg). BT preparation, section thickness 80 μ. Note the almost disappeared activity in the medullary area of HENLE's loops. All 5 ×.

active – SH of fixed tissue proteins to form a colorless substance, which is converted into a colored azo dye by coupling with tetrazotized diorthcanisidine. Furthermore, unfixed frozen sections were treated according to the nitroprusside method of HAMMETT and CHAPMAN[1] and with the ferric-ferricyanide reduction test of LILLIE and BURTNER[2]. Simultaneously the histochemically demonstrable succinic dehydrogenase activity was controlled using blue tetrazolium (BT), 3,3′-dianisole-bis-4,4′(3,4-diphenyl) tetrazolium chloride[3], and neotetrazolium (NT), pp′-diphenylene-bis-2-(3,5-diphenyl) tetrazolium chloride[4].

Employing the method of BARRNETT and SELIGMAN, the glomeruli of the control animals showed a reddish colour indicating a sparse – SH concentration. They showed no succinic dehydrogenase activity demonstrable with tetrazolium salts. The cells of both proximal and distal convoluted tubules were dark blue, revealing a great concentration of – SH groups. The succinic dehydrogenase activity of the convoluted tubules was also intense. The area of HENLE's loops in the medulla showed by its reddish-blue coloration a somewhat slighter content of –SH groups. In contrast, this area reacted most intensely for succinic dehydrogenase. The intermediate zone between the cortex and the medulla consisting principally of the terminal portions of the proximal convoluted tubules and portions of the HENLE's loops was intensely blue of –SH groups, but this area revealed only slight succinic dehydrogenase activity except in some portions of tubules radiating through it. The collecting ducts in the pyramid showed a weak concentration of –SH groups, whereas succinic dehydrogenase activity could not be observed. The unfixed control sections treated with ferric-ferricyanide test revealed a distribution of the staining intensity similar to that of the sections treated with the method of BARRNETT and SELIGMAN. With nitroprusside test the only observation was that the staining of the medulla was weaker than that of the cortex.

The kidney sections of the rats to which Novurit was administered showed no differences in the distribution and intensity of staining as compared with controls when the BARRNETT and SELIGMAN method, ferric-ferricyanide test and nitroprusside test were employed, although the highest doses were generally lethal. In parallel runs for succinic dehydrogenase activity using BT as indicator, the previously reported inhibition in the enzymatic activity in the medullary area of HENLE's loops could be observed. The enzymatic activity was also depressed in the tubular portions radiating through the intermediate zone. These segments have been regarded as the thick portions of HENLE's loops, but they may equally well be straight terminal portions of the proximal convoluted tubules. The activity of the cortical area was more or less depressed depending on the dose of Novurit. Using NT as an indicator for succinic dehydrogenase, a general decline was noticeable in the enzymatic activity after administration of Novurit. The activity in the cells of HENLE's loops in the medulla was depressed somewhat more than that in the cells of the convoluted tubules. However, such a complete or almost complete lack of staining in the cells of HENLE's loops as observed in the BT preparations could not be established. This difference between the sections stained with BT and NT may be attributed to the much greater sensitiveness of NT as an indicator for succinic dehydrogenase. With NT succinic dehydrogenase activity can be demonstrated in several tissues which remain unstained with BT. Furthermore, NT reacts more rapidly and stains thinner sections more uniformly than BT.

According to our results the potential diminution of –SH groups in the kidney cells after administration of mercurial diuretics could not be demonstrated with the histochemical methods used. This result is not an argument against the assumption that mercurial diuretics act by combining with the essential sulfhydryl groups of enzyme proteins, considering the fact that the vast majority of the demonstrable –SH groups are not concerned with these enzymes. The observation that the most pronounced inhibition of succinic dehydrogenase occurs in HENLE's loops of the medullary area, where the concentration of –SH groups is relatively slight, draws one's attention to the possibility that the proportion of essential –SH groups of succinic dehydro-

[1] F. S. HAMMETT and S. S. CHAPMAN, J. Lab. clin. Med. *24*, 293 (1938).

[2] R. D. LILLIE and H. J. BURTNER, J. Histochem. Cytochem. *1*, 8 (1953).

[3] A. M. SELIGMAN and A. M. RUTENBURG, Science *113*, 317 (1951).

[4] E. SHELTON and W. C. SCHNEIDER, Anat. Rec. *112*, 61 (1952).

genase to the total amount of –SH groups is greater in the cells of Henle's loops than in the convoluted tubules. Consequently, the –SH groups of succinic dehydrogenase in the cells of Henle's loops are more apt to be blocked by mercurial compounds resulting in the pronounced inhibition of this enzyme in the corresponding segments of the nephrons where the concentrative reabsorption of water is believed to begin.

This investigation has been supported by a grant from the Sigrid Jusélius Foundation.

A. Telkkä and K. K. Mustakallio

Department of Anatomy, University of Helsinki, December 11, 1953.

Zusammenfassung

Es wurde das histochemische Vorkommen und die Verbreitung der Sulfhydrylgruppen sowie die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase in den Nieren von Ratten nach Administration von Novurit bestimmt. Die Sulfhydrylgruppen zeigten keine Veränderungen, die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase wurde jedoch herabgesetzt, besonders in den Zellen der Henleschen Schleifen.

Prolongation of Clotting Time in the Dormant Bat *(Myotis lucifugus)*

The bat is unique among mammals in that it is essentially poikilothermic when at rest[1]. The rates of the heart beat[2], blood flow[3] and oxygen consumption[4] in the resting bat also vary with the environmental temperature. At low external temperature the red blood cells pass through the vessels either in clumps or rouleaux, but thrombi and stoppage of flow are not seen[3]. At ordinary room temperature (23°C) blood flow is similar to that seen in other mammals. We sought to determine whether changes in the coagulation time of the blood accompany the markedly different physiological states induced by altering the environmental temperature.

Brown bats (*Myotis lucifugus*) were taken from a summer colony in the attic of a farm house in Indiana during the 2nd week of September. The minimum (night) and maximum (day) environmental temperatures during this period were 10°C and 30°C, respectively. Blood clotting times were determined by the capillary tube technic on samples obtained from puncture of a large vein in the web between the tail and hind legs and from the cut carotid artery. Some bats were studied at the time of collection. Other bats were brought to the laboratory and placed in a refrigerator at 5°C. After 16 and 50 days blood samples were taken from some of these immediately upon removal from the refrigerator and from others several days after removal from the cold and maintenance in a room at 23°C.

The results (see Table) clearly show that clotting time is markedly prolonged as a result of exposure of the bat to low temperature and that it becomes short once again when the animal is returned to a warm environment. (There were no significant differences between the clotting times of samples from the tail vein and those from the carotid artery in the same animal.)

[1] M. Hall, *The Cyclopedia of Anatomy and Physiology* (Edit. R. B. Todd, London, 1836). – R. J. Hock, Biol. Bull. *101*, 289 (1951).
[2] M. Hall, *The Cyclopedia of Anatomy and Physiology* (Edit. R. B. Todd, London, 1836).
[3] D. E. Smith, Unpublished observations.
[4] R. J. Hock, Biol. Bull. *101*, 289 (1951). – D. E. Smith, Unpublished observations.

Table.—Blood Clotting Time

Time of test	No. of bats	Minimum	Maximum	Average
On collection	10	1·5′*	24′*	7·4′*
On 16th day at 5°C	4	72′	275′	149′
On 50thday at 5°C	2	170′	210′	190′
On 3rd day at 23°C after removal from 5°C on 16th day	3	8′	40′	26′
On 2nd day at 23°C after removal from 5°C on 50th day	4	10′	30′	19′

* Combination of clotting times from carotid artery and tail vein samples.

We interpret these findings as indicating an adaptive mechanism which prevents thrombus formation during dormancy. Similar results in the hibernating hedgehog[1] and hamster[2] and in the estivating ground squirrel[3] have been interpreted in the same fashion. The present results and those of the experiments just cited indicate that this mechanism is common to all types of mammals that can enter a state of dormancy.

D. E. Smith, Yvette S. Lewis, and G. Svihla

Argonne National Laboratory, Lemont, Ill., U.S.A., January 18, 1954.

Résumé

En été, la durée de coagulation du sang augmente notablement si l'on soumet la chauve-souris à une basse température (5°C); elle diminue dès qu'on replace l'animal dans un milieu chaud (23°C). Ceci indique l'existence d'un mécanisme adaptif qui prévient la formation du thrombus.

[1] P. Suomalainen and E. Lehto, Exper. *8*, 65 (1952).
[2] A. Svihla, H. Bowman, and R. Pearson, Science *115*, 272 (1952).
[3] A. Svihla, H. R. Bowman, and R. Ritenour, Science *114*, 298 (1951).

Etude de la consommation d'oxygène et de la teneur en acide désoxyribonucléique du foie à divers âges chez le rat

La diminution de la consommation d'oxygène des tissus et des organes avec l'âge a été constatée par divers auteurs parmi lesquels nous citerons Hawkins[1], Pearce[2], Kaganovskaya[3], Carroll[4], Rosenthal, Bowie et Goner[5], Schuler[6], Lazovskaya[7], Cheymol et Pelou[8]. Il convient cependant de rappeler que dans tous ces cas la quantité d'oxygène consommé a été rapportée soit au poids frais, soit au poids sec. Or la constitution des tissus elle-même varie avec l'âge et on

[1] J. A. Hawkins, J. Gen. Physiol. *11*, 645 (1928).
[2] J. M. Pearce, Amer. J. Physiol. *114*, 255 (1936).
[3] S. N. Kaganovskaya et I. L. Kan, Biokhimiya *2*, 494 (1937).
[4] M. J. Caroll, Arch. F. exp. Zellforsch. *22*, 592 (1939).
[5] O. Rosenthal, M. A. Bowie et W. G. Goner, J. Cell. e Comp. Physiol. *17*, 221 (1941).
[6] W. Schuler, Helv. physiol. Acta *1*, 105 (1943).
[7] L. N. Lazovskaya, Biokhimiya *8*, 171 (1943).
[8] J. Cheymol et A. Pelou, C. r. Soc. Biol. *138*, 91 (1944).

ne saurait admettre que le même poids correspond aux mêmes constituants chez un sujet jeune, adulte ou âgé. Partant de ces considérations, il nous a paru intéressant d'examiner la consommation d'oxygène du foie en fonction de l'âge, en rapportant les valeurs à l'acide désoxyribonucléique (A.D.N.). Nous avons montré en effet que si l'on rapporte les quantités d'oxygène consommé par divers tissus à l'A.D.N., on peut saisir des phénomènes qui passent inaperçus lorsqu'on exprime les résultats par rapport au poids frais ou au poids sec selon le mode classique[1]. De plus, connaissant la quantité d'A.D.N. correspondant à un groupement diploïde de chromosomes qui est très approximativement celle des leucocytes facile à déterminer, on peut suivre une caractéristique métabolique dont l'évolution à travers l'âge ne manque pas d'intérêt, comme nous allons le voir.

Il nous a paru également indiqué de rechercher la quantité moyenne d'oxygène consommé par cellule chez des sujets jeunes d'une part, chez des sujets âgés d'autre part. Or nous avons constaté que la polyploïdie des cellules hépatiques augmente avec l'âge[1]. Il convenait donc de rapporter l'oxygène consommé à la quantité moyenne d'A.D.N. des noyaux à divers âges pour saisir les échanges à l'échelle cellulaire.

Nos essais ont porté sur 85 rats dont l'âge s'étend entre 8 jours et 2 ans. Les coupes de foie ont été effectuées à l'aide du microtome de Herbain[2] dans une chambre froide. La consommation d'oxygène a été déterminée à l'appareil de Warburg en atmosphère d'oxygène en milieu de Krebs[3] en présence de citrate. L'A.D.N. a été déterminé selon la technique de Schmidt et Thannhauser modifiée, utilisée dans notre laboratoire[4]. Nous avons évalué parallèlement au poids du foie et à la quantité d'oxygène consommé la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau cellulaire isolé selon Dounce[5] et la quantité absolue d'A.D.N. du foie aux divers âges.

[1] P. Mandel, M. Jacob et L. Mandel, 2e Congr. intern. Biochim. Paris, 1952.

[1] P. Mandel, Exp. annuels Biochim. Méd. *13*, 255 (1951).
[2] M. Herbain, Bull. Soc. Chim. Biol. *32*, 1062 (1950).
[3] H. A. Krebs, Biochim. et Biophys. Acta *4*, 249 (1950).
[4] Nous en publierons prochainement une description détaillée.
[5] A. L. Dounce, J. Biol. Chem. *1943*, 235.

Tableau I

1		2	3	4	5	6	7	8	9
						Consommation d'oxygène pour			
Age	Nb.	Poids d'un rat g	Poids d'un foie g	P. A.D.N pour un foie mg	P. A.D.N pour un noyau $\times 10^{-6}\gamma$	un foie cm^3/h	un mg de poids frais mm^3/h	un mg de P. A.D.N mm^3/h	un noyau mm^3/h
8j.	26	14,3	0,473	0,071	0,725	0,626	1,32	8,8	6,4
		± 4,7	± 0,103			± 0,248	± 0,25	± 1,7	
14j.	17	26,4	0,703	0,127	0,687	0,825	1,17	6,5	4,5
		± 3,2	± 0,240			± 0,190	± 0,18	± 1,1	
30j.	11	66,0	2,794	0,578	0,832	5,11	1,82	8,8	7,4
		± 6,5	± 0,248			± 1,11	± 0,31	± 1,1	
60j.	8	129	5,599	0,855	0,940	7,82	1,40	9,2	8,5
		± 14	± 0,390			± 2,45	± 0,30	± 2,0	
Ad.	16	219	8,069	1,130	1,196	9,85	1,22	8,7	10,4
		± 51	± 2,291			± 1,35	± 0,25	± 1,4	
2 ans	7	243	9,418	1,540	1,218	7,57	0,80	4,9	6,0
		± 45	± 1,826			± 2,49	± 0,22	± 1,5	

En-dessous de chaque valeur, nous avons indiqué la déviation standard

$$s = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$$

Abréviations utilisées: j. = jours; Ad. = adultes; Nb. = nombre d'animaux.

Tableau II. Valeurs exprimées en pour-cent de celles des adultes.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
					Consommation d'oxygène rapportée			
Age	Poids d'un rat	Poids d'un foie	P. A.D.N d'un foie	P. A.D.N moyen d'un noyau	au foie total	au poids frais	au groupement diploïde de chromosomes	au noyau
8j.	6,5	5,8	6,3	60	6,4	108	101	61
14j.	12	8,6	11,4	57	8,4	96	75	42
30j.	30	35	51	69	52	149	101	71
60j.	59	69	76	78	80	115	106	82
Ad.	100	100	100	100	100	100	100	100
2 ans	111	117	136	102	78	65	56	57

Les résultats de nos essais ont été consignés dans les tableaux (p. 219).

Nous retrouvons le fait classique: la diminution de la quantité d'oxygène consommé par unité de poids avec le vieillissement (col. 7). Mais si dans ce cas la réduction est de 35%, la quantité globale d'oxygène consommé pour un foie baisse seulement de 22% (col. 6). Ceci s'explique par l'accroissement du poids du foie, lequel ne correspond pas simplement à une augmentation de masse cytoplasmique (col. 3) puisque la quantité absolue d'A.D.N. qui représente la masse chromosomique augmente également (col. 4). De plus, même en tenant compte de la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau (col. 5) on peut affirmer que le nombre de noyaux, par conséquent de cellules, continue à s'accroître jusqu'à un âge très avancé. Il paraît donc vraisemblable qu'il existe une compensation fonctionnelle consécutive à l'hyperplasie.

Un nouvel aspect des échanges apparaît si l'on considère la consommation d'oxygène moyenne correspondant soit à un groupement diploïde de chromosomes (unité standard), soit à un noyau. On constate alors que la consommation d'oxygène correspondant à un équipement diploïde de chromosomes qui déjà à huit jours a la même valeur que chez l'adulte, se trouve chez le sujet âgé réduite de 44%, c'est-à-dire presque de moitié. Ce fait prend une importance capitale si l'on admet que le noyau par son groupement chromosomique contrôle le métabolisme cellulaire. D'autre part, si compte tenu de la polyploïdie et de la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau (col. 5), on considère la quantité d'oxygène consommé en moyenne pour une cellule (col. 9) il apparaît que la cellule jeune utilise entre 7 et 15 jours approximativement la moitié de l'oxygène de la cellule adulte et que chez les sujets âgés on note une baisse de 40%. Comme par ailleurs la quantité d'A.D.N. du foie augmente avec l'âge (col. 4), nous confirmons que la diminution de la consommation d'oxygène par cellule se trouve chez le sujet âgé partiellement compensée grâce à l'accroissement du nombre de cellules.

Mlle M. Jacob, Mme L. Mandel et P. Mandel

Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, Université de Strasbourg, le 1er décembre 1953.

Summary

The quantitative study of whole liver DNA and liver nuclei DNA at various ages, and the simultaneous study of oxygen uptake shows the following facts:

(1) The rate of oxygen consumption to the fresh weight or to the DNA or to diploid chromosomes group is the same for the adult or the young aged 8 days. The values of oxygen consumption calculated for one cell or for one nucleus (taking notice of the fact that the mean level of liver nuclei DNA varies with the age) at 8 days is only the half of the adult value. Even at two months the value is 20% lower than in the adult.

(2) In older animals there is a decrease of oxygen uptake which is more noticeable on a cellular scale than with the classical rate to fresh or dry weight. We affirm the fact that the diminution of the oxygen uptake of each cell is compensated by the increase of the number of cells.

With Reference to the Relations Between Proliferation Activity of Erythroblasts and their Sensitivity to Hypoxia

In previous reports in this Journal, we outlined the adverse action exerted by hypoxia on the proliferation activity of erythroblasts when the condition is created directly on the bone marrow survival. Our investigations have furthermore enabled us to ascertain that the megaloblast of pernicious anemia in relapse[1] appears to be far more sensitive than is the normoblast of normal bone marrow[2], and that in turn the basophile shows a higher sensitivity than the polychromatophil (for the two cell series, normo- and megaloblast, respectively). Later investigations[3] have shown that differences in sensitivity between megaloblasts and normoblasts are gradually reduced during treatment until they completely disappear.

On the grounds of these results, we had to consider whether the difference in sensitivity to hypoxia, which exists between normoblasts and megaloblasts, is in any way connected with the different type of the two erythroblasts, or with just the different proliferation activities of these cells. Consequently we have carried out investigations on the influence exerted by hypoxia on erythroblastic proliferation in five cases of Cooley's disease. As a matter of fact, although the erythroblast of this marrow is of normoblastic type, it is characterised by a proliferation activity considerably higher than that of the normal human bone marrow normoblast[4]. (This investigation of ours further confirmed this finding.)

These researches were carried out with the help of the stathmocinetic test (Astaldi and Mauri)[5], using the same procedure and equipment adopted in our previous experiments[6]. The pressures applied were 760, 560, 360, and 160 mm Hg.

The study was carried out on basophils because they possess a higher proliferation activity than polychromatophils[7]; thus any differences in sensitivity between the different erythroblasts examined should give a more reliable result.

Table I relates the average stathmocinetic index values obtained at the different pressure degrees; i.e., the indices expressing the proliferation activity in respect to the different pressure levels. They are given as percentages of the proliferation activity of the basophil erythroblasts at normal pressure.

In order to establish the significance of the results, they were submitted to the analysis of variation with two criteria, viz: subjects–degree of pressure. The results are reported in Table II.

The Diagram relates the average proliferation values of the basophil erythroblasts of normal human bone marrow, pernicious anemia in relapse and Thalassemia respectively, and their linear interpolant.

The functions of these interpolants are as follows:

$$f(xi) = 63{\cdot}8 + 0{\cdot}1289\,(xi - M)$$

[1] G. Astaldi, E. Bernardelli, and G. Rebaudo, Exper. *9*, 261 (1953).

[2] G. Astaldi, E. Bernardelli, and G. Rebaudo, Exper. *8*, 117 (1952).

[3] G. Astaldi, E. Bernardelli, and G. Rebaudo, Haemotol. (to be printed).

[4] G. Astaldi and P. Tolentino, J. Clin. Pathol. *5*, 140 (1952).

[5] G. Astaldi and C. Mauri, Haematol. *33*, 583 (1949); Le Sang, *21*, 378 (1950).

[6] G. Astaldi, E. Bernardelli, and G. Rebaudo, Le Sang, *23*, 293 (1952).

[7] G. Astaldi, A. Allegri, and C. Mauri, Exper. *3*, 499 (1947)

Table I.—Average Stathmocinetic Indices Under different Pressure Levels

Pressure Levels mm Hg	Proliferation	
	Mean $m \pm \sigma_m$	Dispersion $\sigma \pm \sigma_\sigma$
	Normal	
760	100 ± 0	0 ± 0
660	88·4 ± 3·13	9·90 ± 2·21
560	83·3 ± 2·68	8·47 ± 1·89
460	52·80 ± 4·22	13·34 ± 2·98
360	45·9 ± 2·28	7·21 ± 1·61
260	35·1 ± 1·29	4·08 ± 0·91
160	27·2 ± 1·86	5·88 ± 1·31
	Pernicious Anemia	
760	100 ± 0	0 ± 0
660	47·6 ± 1·74	4·6 ± 1·22
560	44·6 ± 4·20	11·1 ± 2·97
460	32·9 ± 2·15	5·7 ± 1·52
360	20·3 ± 3·33	8·8 ± 2·35
260	9·3 ± 1·21	3·2 ± 0·85
160	6·2 ± 0·64	1·7 ± 0·45
	Thalassemia major	
760	100 ± 0	0 ± 0
560	70·0 ± 4·16	9·27 ± 2·93
360	58·7 ± 2·14	4·79 ± 1·51
160	24·5 ± 3·8	8·60 ± 2·72

for the basophil erythroblasts from normal human bone marrow;

$$f(xi) = 42{\cdot}8 + 0{\cdot}1529\,(xi - M)$$

for the basophil megaloblast from pernicious anemia;

$$f(xi) = 63{\cdot}3 + 0{\cdot}1169\,(xi - M)$$

for the basophil erythroblast from Thalassemia major.

The proliferation indices of the hyperproliferating normoblast from Thalassemia major were compared by statistical methods with those of the normoblast from normal marrow and those of the megaloblast from pernicious anemia, respectively, The methods used were Student-Fischer t^2 and Snedecor's F ones. The results are reported in Table III.

The results of our investigations show that:

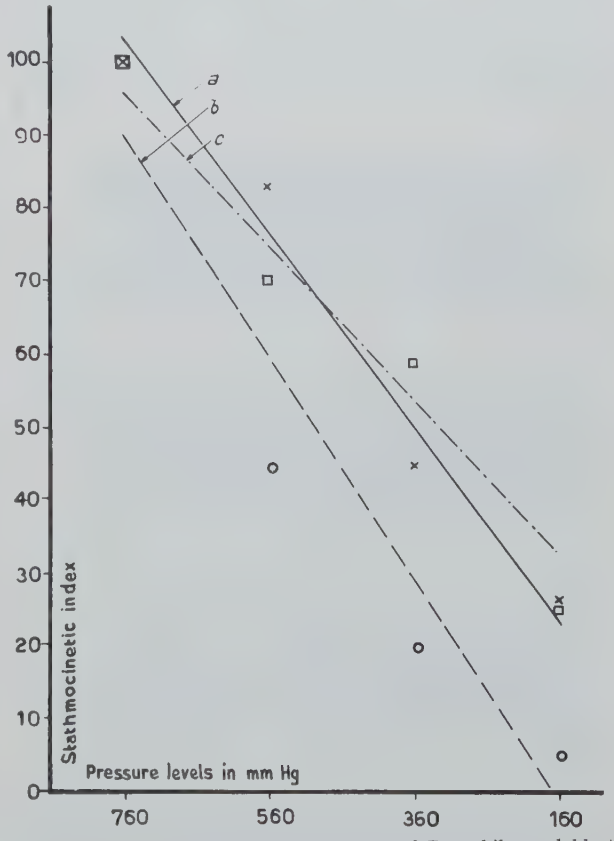
(1) There is no significant difference regarding the sensitivity to hypoxia between the normoblast from normal human bone marrow and the normoblast from the bone marrow of Thalassemia major, in spite of the fact that in the latter case the proliferation activity is considerably higher than in the former.

(2) The hypoxia sensitivity of the normoblast from Thalassemia major shows a marked difference in respect to the sensitivity of the megaloblast from pernicious anemia in relapse, in spite of the fact that both these cells show a proliferation activity considerably higher than the standard normal one.

Table III.—Significance of the Differences between Averages.

Between normoblast of Thalassemia and normoblast of normal marrow				Between normoblasts of Thalassemia and megaloblasts			
t^2	F		Judgement	t^2	F		Judgement
	0·01	0·05			0·01	0·05	
0·001	7·35	4·10	—	8·17	7·35	4·10	+

From our results, taken as a whole, we feel authorized to draw the conclusion that the greater reaction to hypoxia exhibited by the megaloblast in respect to the normoblast is not merely a consequence of the fact that the former has a higher proliferation activity than the latter. We should rather say that the different sensitivity



a Basophil erythroblast of normal marrow. *b* Basophil megaloblast of pernicious anemia. *c* Basophil erythroblast of thalassemia major. The stathmokinetic indices at 760 mm Hg are considered equal to 100.

Table II.—Results of Variation Analysis with two Different Criteria

Sources	Degree of freedom	Sum of the squares	Mean square	F ratio Snedecor	F Significative	
					5%	1%
Totals	19	15354·27	808·21	—	—	—
Between pressures	3	14668·48	4889·49	92·44	3·49	5·95
Between cases	4	51·09	12·77	4·14	3·26	5·41
Residue, experimental error, etc.	12	634·70	52·89	—	—	—

is related to the intimate biological differences between these two cellular types.

G. Astaldi, E. Bernardelli,
E. Rebaudo, and R. Parmentier

Department of Internal Medicine, University of Pavia, September 1, 1953.

Riassunto

Da ricerche precedenti era apparso che l'ipossia inibisce la proliferazione degli eritroblasti e che il megaloblasto è più inibito del normoblasto. Onde stabilire se il grado di sensibilità è strettamente collegato con la particolare natura del tipo di eritroblasto – normo- e megaloblasto – oppure se tale grado è in rapporto soltanto con l'intensità proliferativa cellulare, gli autori hanno studiato l'influenza dell'ipossia su normoblasti altamente proliferanti (in particolare, quelli della Talassemia major). Essi hanno potuto rilevare che questi ultimi posseggono lo stesso grado di sensibilità all'ipossia del normoblasto del midollo osseo umano normale, inferiore quindi a quello del megaloblasto dell'anemia perniciosa. Pertanto gli autori concludono che le differenze tra normoblasto e megaloblasto rispetto al fenomeno esplorato sono strettamente correlate con l'intima biologia dei due tipi cellulari.

Effet de quelques colorants basiques sur l'induction embryonnaire

Dès 1932[1], on a reconnu que les propriétés inductrices de la lèvre blastoporale sont remarquablement résistantes à l'effet des traitements les plus variés (chaleur, congélation, dessication, traitement à l'alcool). Holtfreter[2] a exploré systématiquement la résistance de ces propriétés inductrices sous diverses conditions. Dans un travail précédent[3], nous avons examiné la possibilité de bloquer cette propriété inductrice, et observé que le traitement préalable de l'organisateur par le formol entraîne soit la suppression, soit une atténuation du pouvoir inducteur. Plus récemment, Kuusi[4], travaillant sur des fractions de matériel inducteur provenant d'extraits tissulaires, a observé la suppression de l'induction spinale et deutérencéphalique par le formol.

Le problème de l'induction embryonnaire, abordé sous l'angle de la recherche des conditions susceptibles de faire disparaître ou de modifier d'une façon appréciable le pouvoir inducteur, peut donc fournir des renseignements intéressants sur la nature de ce matériel inducteur.

A cet effet, nous avons examiné les propriétés inductrices de lèvres dorsales traitées par des colorants basiques. Les lèvres, prélevées sur de jeunes gastrulas de *Amblystoma mexicanum*, sont fixées par un séjour de 2 h dans de l'alcool à 95° et sont ensuite plongées dans des solutions de colorants jusqu'à ce qu'elles apparaissent colorées dans toute leur masse, ce qui nécessite en moyenne 2 à 3 h. Les colorants utilisés sont choisis en raison de leur affinité pour les acides nucléiques: ce sont la pyronine, le bleu de toluidine, l'acriflavine et l'acridine orange. La concentration est de 1/10000, sauf pour le bleu de toluidine qui est utilisé en solution à 2%. L'excès de colorant est enlevé par un lavage au liquide de Holtfreter. La mise en place du greffon dans le blastocèle de la jeune gastrula hôte et l'élevage des embryons greffés s'effectuent selon les techniques habituelles. Les embryons sont fixés après un délai variable, allant de 72 à 120 h après l'opération, puis coupés pour l'examen microscopique.

Le matériel greffé se montre constamment inducteur, sauf dans quelques cas où le greffon mal toléré est éliminé au cours de la cicatrisation. Il arrive également que le greffon inerte s'insère dans l'entoblaste de l'hôte. En l'absence d'un contact étroit avec l'épiblaste compétent, l'induction est négative. Les inductions obtenues avec les organisateurs colorés diffèrent assez peu de celles fournies par les organisateurs simplement fixés par l'alcool. Les vésicules neurales induites dépassent rarement le volume des structures céphaliques de l'hôte (2 cas sur 58). Il s'agit, en majorité, de structures neurales de volume moyen, présentant parfois des annexes sensorielles (otocystes). Certains embryons fixés plus précocement montrent simplement une petite plaque neurale induite ou même une gouttière neurale en voie de fermeture.

Les organisateurs fixés et colorés conservent donc leur capacité d'induire des structures neurales dans l'épiblaste compétent. La fixation des colorants basiques sur les structures basophiles et principalement sur les acides nucléiques de l'organisateur n'entraîne donc pas la disparition de sa capacité d'induire des structures neurales. Dans l'hypothèse où les acides nucléiques joueraient un rôle prééminent dans l'induction, on est amené à penser que la combinaison acide nucléique-colorant basique n'entraîne nullement une altération du rôle de ces acides nucléiques. Ceux-ci pourraient, cependant, intervenir par des groupements chimiques non bloqués par les colorants. Mais il semble difficile de maintenir cette hypothèse: les acides nucléiques, qui interviennent sans doute surtout à l'état de complexes nucléoprotéiques, ne jouent qu'un rôle vraisemblablement indirect dans les phénomènes d'induction. Les récentes études de Kuusi[1] ont montré, en effet, que des inductions archencéphaliques peuvent être obtenues avec du matériel riche en acide ribonucléique, mais l'enlèvement de ce dernier par des méthodes différentes (ribonucléase, acide perchlorique) n'entraîne qu'une très faible diminution du pouvoir inducteur. D'autre part, des fractions protéiques de muscle induisent des structures archencéphaliques en proportion notable.

La relation entre les acides nucléiques et l'induction embryonnaire apparaît ainsi fort complexe et le rôle des protéines engagées dans les complexes nucléoprotéiques semble essentiel à certains aspects de l'induction. A cet égard, la méthode de blocage du pouvoir inducteur par des agents chimiques définis, qui a déjà donné d'utiles indications, semble devoir être précieuse à l'avenir pour résoudre le problème de l'induction, dans la mesure où l'on pourra déterminer avec précision la nature des groupements chimiques mis en jeu.

R. Lallier

Institut de biologie physico-chimique, Paris, le 23 février 1954.

Summary

A series of grafts of blastoporal lips, previously fixed and colored by various basic dyes, has been carried out. Grafts implanted in the blastocœl gave typical inductions in all cases.

[1] H. Bautzmann, J. Holtfreter, O. Mangold et H. Spemann, Naturwissenschaften *20*, 349 (1932).

[2] J. Holtfreter, Arch. Entw. Mech. *128*, 584 (1933).

[3] R. Lallier, Exper. *6*, 92 (1950).

[4] T. Kuusi, Ann. Zool. Soc. «Vanamo» *14*, 4 (1951).

[1] T. Kuusi, Arch. biol. *64*, 189 (1953).

Contribution a l'étude du syndrome moteur provoqué chez la Souris par l'amino-dipropionitrile (souris tournantes)

En 1952, Rothlin et Cerletti[1] ont décrit un syndrome moteur très particulier, apparu spontanément chez certaines souris de leur laboratoire. Ce syndrome est caractérisé par une agitation spontanée de l'animal et le déclanchement intermittent d'accès de «course circulaire» à très grande vitesse. Rothlin attribue à une mutation génétique l'apparition de ce syndrome. Il a réussi à faire un élevage de souris tournantes en les croisant entre elles.

Quelques mois aupparavant, nous avions[2] décrit un syndrome identique mais provoqué par l'injection à l'animal d'amino-dipropionitrile. Déjà Ehrlich (cité par Gruneberg)[3] et Morgan[4] l'avaient également déclanché par injections de dérivés arsenicaux, et Goldin et collaborateurs[5] ont également décrit les manifestations motrices provoquées chez la souris par les amines chlorées.

Dans notre première note[2] nous n'avons fait état que du déclanchement du phénomène et de la liste des dérivés du nitrile acrylique dont l'amino-dipropionitrile était un terme.

Nous voulons préciser ici les conditions d'apparition du phénomène et donner l'analyse graphique du syndrome d'agitation de la souris «tournante»,

Pour produire le syndrome nous injections à des souris d'un poids moyen de 20 g et en bonne santé, une dose de 1 g 50/kg d'amino-dipropionitrile. L'injection est pratiquée dans la cavité péritonéale ou sous la peau, tous les deux jours; un total de 4 injections suffit.

C'est à partir de la 4e injection que l'animal présente un état d'agitation anormal, puis en quelques jours, le syndrome se constitue de façon définitive sans qu'il soit nécessaire de faire d'autres injections. La «souris tournante» par amino-dipropionitrile a une durée moyenne de vie identique à celle de n'importe quelle souris. Elle mange et dort normalement. L'étude des fonctions de reproduction est en cours et fera l'objet d'une note ultérieure.

Entre les périodes de sommeil et d'alimentation, spontanément les souris présentent une hyperactivité généralisée, elles tournent en rond dans les deux sens, ou présentent des mouvements choréo-athétosiques et, d'une façon générale, l'animal présente des troubles de la coordination motrice avec perte de l'équilibre sur les appuis étroits et difficultés pour s'arc-bouter sur les plans inclinés.

La perte du réflexe de nage est un des signes important du syndrome; contrairement aux souris normales qui nagent très bien, la «souris tournante» dans l'eau se débat et fait le «tonneau», et se noierait si l'on ne la retirait pas du récipient.

Pour donner une idée de l'importance de l'agitation de la souris tournante nous avons fait des enregistrements graphiques suivant les procédés que nous avons décrits par ailleurs[1]. La figure 1 montre les tracés d'une souris normale et d'une souris tournante.

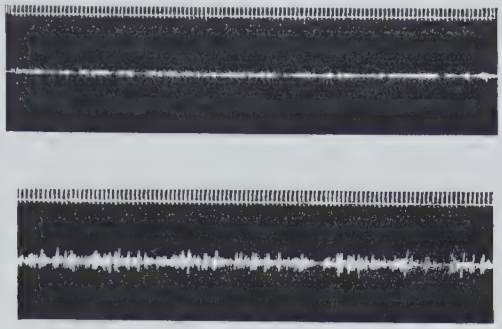
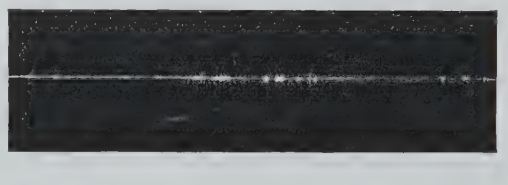
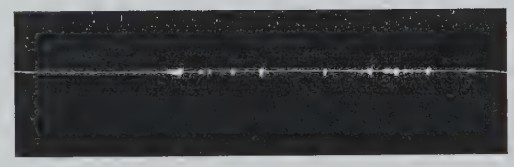


Fig. 1.

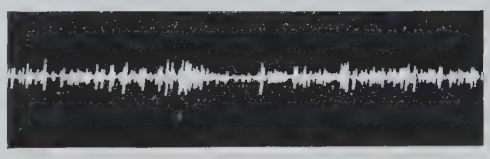
Nous avons également étudié l'action de la chaleur et du froid sur le syndrome. Le froid a peu d'influence mais, par contre, la chaleur provoquée par le rayonnement d'une source calorifique entraîne une augmentation considérable de l'hyperactivité de la souris tournante (Fig. 2) alors que le comportement de la souris normale est très peu influencé.



Souris normale.



Souris normale chauffée.



Souris tournante.

Souris tournante chauffée.

Fig. 2.

De plus, alors que la souris normale se soustrait par tous les moyens à la source de chaleur, la «souris tournante» continue à s'agiter devant elle à une allure de plus en plus accélérée.

[1] J. Thuillier et A. Burger, C. r. Soc. Biol. *146*, 1025 (1952).

[1] E. Rothlin et A. Cerletti, Helv. physiol. pharm. Acta *10*, Fasc. 3, 319 (1952). – G. Wolf-Heidegger, F. Schummann et J. Meier, *Erbliche Drehbewegungen bei Mäusen*, Verh. Schweiz. naturforsch. Ges. *1941*, 205.

[2] J. Delay, P. Pichot, J. Thuillier et J. Marquisez, C. r. Soc. Biol. *146*, 533 (1952).

[3] H. Gruneberg, *The Genetics of the Mouse* (Cambridge University Press 1943), p. 125.

[4] T. H. Morgan, Ann. New-York Acad, Science *21*, 87 (1911).

[5] A. Goldin, H. A. Noe *et al.* J. Pharm. Exp. Therap. *94*, 249 (1948).

Nous tenons également à signaler que nous avons provoqué, avec l'amino-dipropionitrile, le même syndrome chez le rat. Nous publierons ultérieurement les résultats de cette étude.

Conclusions. Bien que l'étude du syndrome neurologique de la souris tournante provoqué par l'amino-dipropionitrile diffère un peu de celui décrit par Rothlin, il s'en rapproche par de nombreux points. L'utilisation de ces «souris tournantes» pour tester l'activité de médicaments sédatifs peut être envisagée.

J. Thuillier et A. Burger

Laboratoire de biologie, Clinique des maladies mentales, Hôpital Ste-Anne, Paris, le 29 octobre 1953.

Zusammenfassung

Obwohl sich das neurologische Syndrom der Drehmaus unter Einfluss des Amino-dipropionitril nicht mit der von Rothlin beschriebenen kongenitalen Drehsucht deckt, sind doch einige Punkte vergleichbar. Die Benützung solcher Drehmäuse für pharmakologische Untersuchungen, zum Beispiel zur Prüfung von Sedativa, ist in Betracht zu ziehen.

Evidence for the Participation of the Preoptic Area in Male Mating Behaviour

The effects of electrolytic lesions in diencephalon have been investigated in about a thousand rats in connection with studies of the pituitary-hypothalamic system. During this work, it appeared that injuries situated in the immediate front of the hypothalamus proper could provoke the typical male copulatory behaviour in females as well as males. As the neural mechanism causing this behaviour is unknown, some observations concerning this problem are presented here.

Material and Methods. Bilaterally symmetrical electrolytic lesions were made in adult white rats under ether anaesthesia using a previously described instrument[1]. The position of the lesions was varied in antero-posterior direction from the region just anterior to the preoptic area to the mammillary bodies. Injuries of various size were produced by means of a current of 0·3–0·5 mA for 15 to 30 s.

For exact localization of the lesions, the hypothalamic region was fixed in Carnoy and cut in serial sections of 10 μ. The sections were stained in gallocyanin according to Einarson.

Results. In the great majority of the rats, the electrolytic lesions did not produce any increased sexual activity. 18 animals, however, exhibited intense copulatory responses when placed with other animals. Independent of the sex of the experimental animal, these reactions were always of the masculine patterns of sexual performance. The observed reactions were:

Within 20 to 30 min after the awakening from the ether anaesthesia, the animals began to show aggressive sexual activity towards other rats which were placed in the same cage. This activity consisted of mounting and clasping the other animals and execution of pelvic thrusts in a typical male fashion. This was continuously repeated for several hours, only being interrupted by short intervals. Thereafter these reactions were weaker and disappeared in a short time.

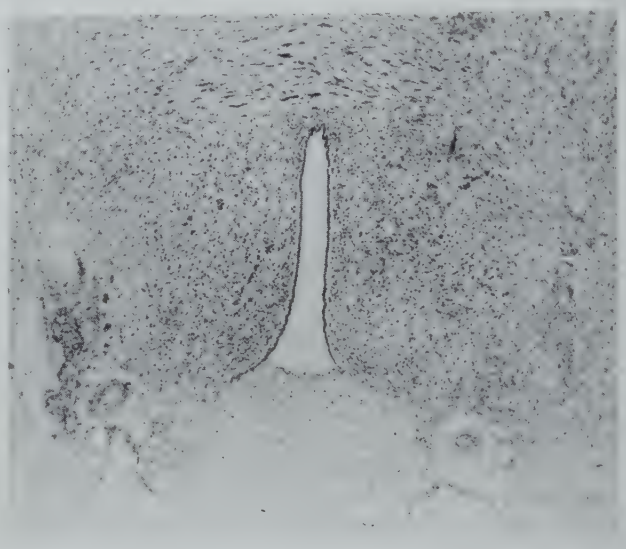
[1] N.-Å. Hillarp, Acta physiol. Scand. *14*, 257 (1947).

The exhibited copulatory responses were quite independent of the sex of the stimulus animal: males as well as females were mounted without selection. If the stimulus rats were females, the sexual activity of the experimental animal was independent of these being in oestrus or not.

The experimental female rats did not show any feminine oestral reactions during the phase of increased sexual activity described above. If sexually starved male rats tried to mount these females, they were indifferent and did not display the lordosis response which is typical for the female in oestrous.

Removal of the ovaries in female rats did not prevent the appearance of the described sexual reactions after the electrolytic lesions. Three females castrated 8 months before the operation showed the same behaviour as the non-castrated animals.

The brains of all the experimental animals were examined in regard to the localization and dimension of the lesions.



Small bilaterally symmetrical lesions in the basal part of the preoptic area of a female rat which showed intense male copulatory reactions × 30.

In the rats that showed the intense male copulatory responses after the operation, the lesions were in all cases situated within the preoptic area. The injuries were localized to the basal parts of this region and their centre was bilateral-symmetrically situated at 0·5–1 mm from the wall of the 3rd ventricle. In some cases the lesions in this region were very small (Fig. 1).–The same or similar reactions could not in any case be produced by lesions within the hypothalamus proper or just anterior to the preoptic area.

Discussion. It is known[1] that the male mating behaviour in male and female rodents is strongly influenced by the cerebral cortex, but that the motor patterns of copulation probably depends upon extra-cortical centres and circuits. Little is known about this neural mechanism. The present investigation, however, shows that male copulatory responses can be provoked from the preoptic area. The fact that such a specific behaviour can be produced from a very limited brain region gives strong

[1] Cf. F. A. Beach, Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology *3*, 3 (1952).

support to the assumption that either a centre is situated here for the integration of the nervous mechanisms for the male mating behaviour, or that there are in this region direct connections with such a centre. In what way this reaction is produced, cannot at present be decided, however. The operative procedure causes a destruction of nerve cells and fibres in the preoptic area, but the short-lasting effect may suggest a stimulation of nervous structures in the vicinity of the lesion. Furthermore these experiments do not answer the question of whether the experimental lesion in the preoptic area causes a change in activity of a sexual centre, or whether it produces a lowered threshold for exteroceptive stimuli.

The male copulatory responses produced from the preoptic area seem to be highly independent of sex hormone stimuli, as shown by the fact that removal of the ovaries does not change this behaviour, and by the fact that the behaviour is independent of the sex and sexual phase of the stimulus animal. The castration experiments also show that the effect of the operative lesion is not mediated by the hypothalamus-pituitary-gonad system, e.g. by stimulation of the hypothalamic centre situated immediately posterior to the preoptic area which controls the secretion of interstitial cell stimulating hormone[1].

N.-Å. Hillarp, H. Olivecrona, and W. Silfverskiöld

Department of Histology, University of Lund, Sweden, October 30, 1953.

Zusammenfassung

Bei Ratten kann durch kleine, umschriebene elektrolytische Läsionen basal in der präoptischen Area das typische Verhalten der männlichen Tiere im Coitus sowohl beim Weibchen als auch beim Männchen ausgelöst werden. Diese Reaktionen werden offenbar durch einen rein neuralen Mechanismus hervorgerufen und scheinen in weitem Masse unabhängig von der Stimulation durch Sexualhormone.

[1] N.-Å. Hillarp, Acta endocrinol. *2*, 11 (1949).

Die vasomotorische Wirkung von Heparin bei Normalen und bei an Raynaudscher Krankheit leidenden Patienten

Die therapeutischen Erfolge, die man in letzter Zeit mit Heparin bei verschiedenen Erkrankungen des arteriellen Gefässapparates erzielt hat, zum Beispiel Angina pectoris[1], Arteriitis der unteren Extremitäten[2], peripherer Atherosklerose[3] oder auch Hypertonie[4], machen es erforderlich, sich mit dem Wirkungsmechanismus des Heparins bei diesen Zuständen näher zu befassen. Die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins, die bis vor kurzem die einzige Voraussetzung für seine Verwendung in der Therapie war, erscheint heute nicht mehr ausreichend, um allein die erwähnten günstigen Ergebnisse zu erklären. So denken Engelberg und Massell[3] an eine Dispersionswirkung auf die Lipoproteine mit daraus sich ergebender Wiederauflösung von Atheromablagerungen; Nichol und Fassett[1] an eine Verminderung der Viskosität des Blutes; Cataldi[2], wenn auch mit gewissen Einschränkungen, gibt zu, dass eine vasomotorische Wirkung eventuell mitspielen könne, wobei er sich insbesondere auf Experimente stützt, die von Gilbert und Nalevski[3] an Hunden vorgenommen worden sind und welche eine, wenn auch nur geringe und vorübergehende Zunahme des Koronarstromvolumens nach Verabreichung von Heparin aufgezeigt haben sollen. Auf Grund plethysmographischer Untersuchungen am Menschen schliessen Abrahams und Howarth[4] auf eine direkte vasodilatierende Wirkung von intravenös injiziertem Heparin.

Im gegenwärtigen Stadium der Forschungen ist es recht schwierig, festzustellen, welche Bedeutung jedem einzelnen dieser vermutlich mitspielenden Faktoren beizumessen ist, und es ist insbesondere noch nicht sichergestellt, ob Heparin, in den üblichen therapeutischen Dosen verabreicht, fühlbare gefässerweiternde Wirkungen auszuüben vermag oder nicht. Wir haben versucht, einen allfälligen vasomotorischen Effekt des Heparins nachzuweisen, und zwar auf Grund von Messungen der Hauttemperatur und von plethysmographischen Untersuchungen an Gesunden sowie vor allem an Patienten mit Raynaudscher Krankheit.

Bei den bisher günstig beeinflussten Fällen handelte es sich meist um *organische* Gefässleiden vorwiegend arteriosklerotischer Natur. Diese Fälle eignen sich deshalb weniger für den Nachweis eventueller vasodilatierender Eigenschaften des Heparins, und es ist auch nicht möglich, den vorteilhaften therapeutischen Effekt mit Sicherheit einer solchen gefässerweiternden Wirkung zuzuschreiben. Bei einer so ausgesprochen auf funktionellen Störungen beruhenden Krankheit, wie es die Raynaudsche ist, muss man jedoch den etwaigen Erfolg der angewandten Therapie mit grosser Wahrscheinlichkeit auf eine angiospasmolytische Wirkung des verabreichten Heilmittels zurückführen.

Die Untersuchungen sind an drei Patientinnen mit Raynaudscher Krankheit durchgeführt worden, bei welchen die Krankheit lokal auf die oberen Gliedmassen beschränkt war. Sie sind dazu noch durch wiederholte Hauttemperaturmessungen an 10 gesunden Kontrollpersonen vervollständigt worden.

Ausser den üblichen klinischen und Laboratoriumsuntersuchungen wurden unsere Patientinnen folgenden Kontrollen unterzogen: Bestimmung der Hauttemperatur (mittels «Cutiterm»-Instrument, Typ CTT 1b) an fünf Stellen der Mittelhand und der Handwurzel; Haut-Thermometrie an den gleichen Stellen nach 10 Minuten langer Abkühlung der Hände in einem Wasserbad von 17°C; plethysmographischen Messungen der Finger. Alle diese Erhebungen wurden vor und nach der intravenösen Verabreichung von 250 mg Heparin (Liquemin Roche) vorgenommen, wobei die Messungen alle 15 min bis eine Stunde nach der Verabreichung wiederholt wurden.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind, unserer Ansicht nach, dahingehend auszulegen, dass Heparin eine bemerkenswerte vasomotorische Wirkung ausübt, die sich bei Patienten mit Raynaudscher Krankheit durch eine erhebliche Zunahme der Hauttemperatur und der plethysmographischen Werte (Zunahme des Pulses und

[1] J. W. Gofman, H. B. Jones, F. T. Lindgren, Th. P. Lyon, H. A. Elliott und B. Strisower, Circulation *2*, 161–178 (1950). – E. Donzelot, H. Kaufmann und J. M. Le Bozec, Sem. Hôp. *31*, 1549–1553 (1953).

[2] M. Rémy, P. Cadiot und Cl. Pernot, Presse méd. *46*, 961–962 (1953).

[3] H. Engelberg und Th. B. Massell, Amer. J. Med. Sci. *225*, 14–19 (1953).

[4] R. Keller, Praxis *1/2*, 12–17 (1953).

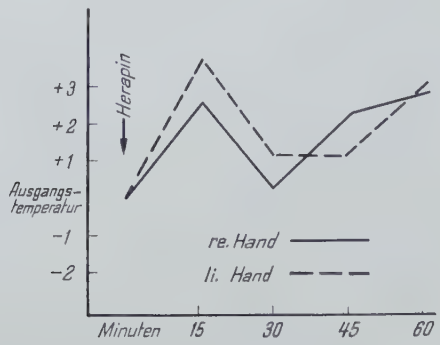
[1] E. S. Nichol und D. X. Fassett, South. M. J. *40*, 631 (1947).

[2] R. Cataldi, Minerva Medica *43*, 132 (1952).

[3] N. C. Gilbert und L. A. Nalevski, J. Lab. Clin. Med. *34*, 797 (1949).

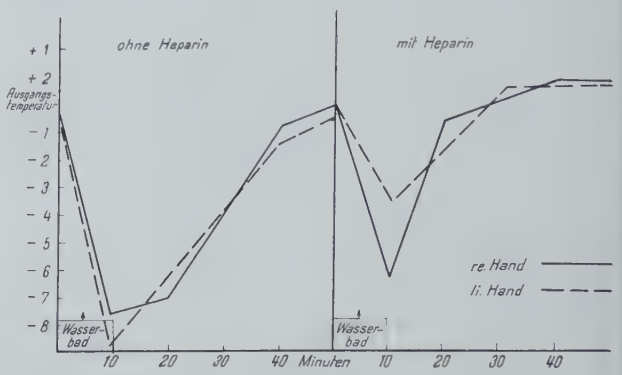
[4] D. G. Abrahams und S. Howarth, Brit. Heart J. *12*, 429 (1950).

arteriellen Zuflusses) sowie durch verminderte Dauer und Intensität der experimentell hervorgerufenen ischämischen Anfälle äussert.



Graphische Darstellung 1. F. Zina, Morbus Raynaud. Verlauf der *Hauttemperaturen* der Hände nach intravenöser Verabreichung von 250 mg Heparin. (Mittelwerte an Metakarpus und Karpus.) Das *Absinken* der thermometrischen Werte nach den ersten 15 min lässt sich häufig beobachten, auch bei normalen Individuen, falls man die Messung am sitzenden Patienten durchführt und entspricht einer Neigung zum Kollaps, wahrscheinlich infolge von Gefässerweiterung der Eingeweide: bei einer gesunden Kontrollperson trat eine regelrechte Ohnmacht auf. Wenn man die Verabreichung am Patienten in liegender Stellung durchführt, so ist diese Neigung viel geringer oder fällt meistens ganz fort. Bei einigen Fällen blieb die Hauttemperatur noch zwei Stunden nach der Verabreichung von Heparin erheblich über dem Ausgangsniveau.

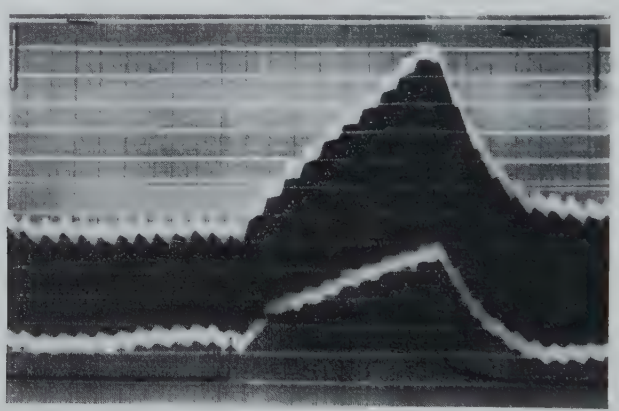
Die plethysmographischen Diagramme[1] und thermometrischen Kurven, die wir hier wiedergeben und die



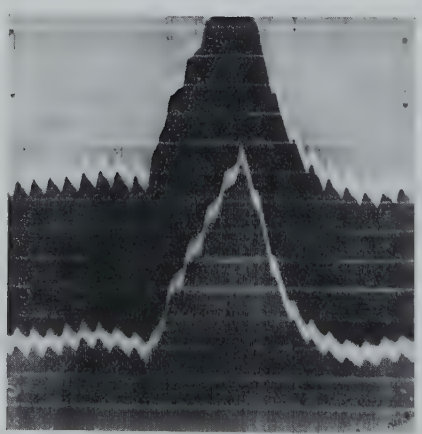
Graphische Darstellung 2. F. Zina, Morbus Raynaud. Verlauf der Hauttemperaturen (Mittelwerte an Metakarpus V und Handwurzel) ohne und mit intravenöser Verabreichung von 250 mg Heparin 5 min vor Eintauchen der Hand in ein Wasserbad von 17° C.

sich sämtliche auf die gleiche Patientin beziehen, veranschaulichen die erzielten Resultate.

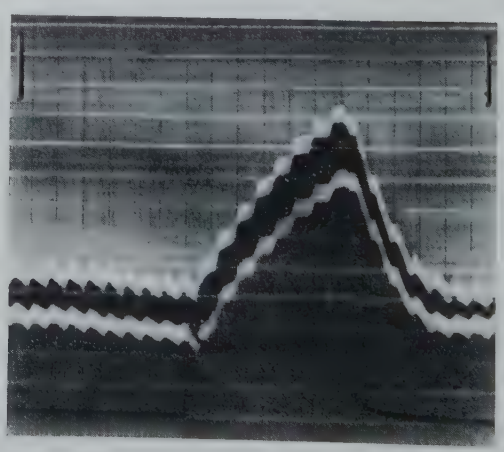
[1] Ausgeführt in der Chirurgischen Klinik der Universität Parma; Leiter: Prof. E. Malan, dem wir unseren verbindlichsten Dank aussprechen.



Vor der Verabreichung von Heparin.



(Nach 15 Minuten)



(Nach 30 Minuten)

F. Zina. Plethysmographie vor sowie 15 und 30 min nach intravenöser Verabreichung von 250 mg Heparin.

Wir haben sodann die gleichen Patienten einer längeren Behandlung mit Heparin unterzogen, indem wir das Mittel in einer Dosis von 250 mg pro Tag in drei Teilinjektionen intravenös verabreichten. In sämtlichen Fällen stellten wir eine Zunahme der Hauttemperatur der Hände und eine verminderte Frequenz der Anfälle fest, welche auch geringere Dauer und Intensität aufwiesen als vor der Behandlung.

Bei 10 gesunden Kontrollpersonen haben wir die Handwurzel- und Mittelhandtemperatur vor und nach der intravenösen Verabreichung von 250 mg Heparin gemessen: die Zunahme der Hauttemperatur war bei diesen Fällen weniger konstant und vor allem von geringerem Umfang und geringerer Dauer als bei den Raynaud-Patientinnen.

Abgesehen von dem mit Sicherheit nachgewiesenen Unterschied zwischen der normalen Gefässreaktionsfähigkeit und der eines mit Raynaudscher Krankheit behafteten Individuums ist die wahrscheinlichste Erklärung des obigen Ergebnisses darin zu suchen, dass beim normalen Individuum die Hauttemperatur schon unter normalen Bedingungen recht hoch ist; in der Tat erzielt man, wenn man bei Raynaudfällen diesen Versuch in der heissen Jahreszeit durchführt, ungleich weniger ins Auge fallende Resultate.

Aus unseren Experimenten geht also hervor, dass Heparin zum mindesten bei Raynaudfällen den Arterienkrampf lösen und eine erhebliche gefässerweiternde Wirkung ausüben kann.

Die günstigen Resultate einer Heparintherapie bei funktionellen, aber auch bei organischen Arterienerkrankungen lassen sich nach unserer Ansicht und auf Grund unserer Untersuchungen besser durch die festgestellten vasodilatierenden Eigenschaften des Heparins erklären als wenn man nur seine antikoagulierende Wirkung in Betracht zieht.

E. Storti, F. Vaccari und G. Scardovi

Istituto Patologia Medica, Università Modena, den 28. November 1953.

Summary

In 3 female patients with Raynaud's disease affecting the upper extremities, the skin temperature and plethysmographic measurements of the fingers were taken before and after the *i.v.* injection of 250 mg heparin (Liquemin "Roche"). The vasomotor effect thus observed was expressed by increase in skin temperature, pulse frequency and arterial supply, and also by decrease in duration and severity of experimentally induced ischemic attacks. After prolonged treatment with 250 mg heparin *i.v.* daily, the skin temperature increased and the attacks decreased in frequency, duration and severity.

These favorable results in functional arterial disorders are attributed to the established vasodilating action of heparin.

Beitrag zur Frage der Eisenresorption

Die Resorption aus dem Darm nach Verabreichung der Antibiotika wird wegen Vernichtung der Flora im Darmkanal zu einem immer schwereren Problem. Uns interessierte die Eisenresorption, die bekanntlich von einem besonderen Mechanismus reguliert wird, damit es nicht zu einer Überschwemmung mit diesem Metall kommt.

Wir stellten uns die Frage, ob 1. die Eisenresorption aus dem Darmkanal in einer anderen Weise vonstatten geht, wenn dieser steril ist, und 2. welchen Einfluss die normale Flora auf diese Resorption ausübt.

Kaninchen (1500–3000 g) erhielten täglich 30 mg Terramycin + 25000 I.E. Penicillin *per os*. Bakteriologische Stuhlkontrollen zeigten schon nach 3–4 Tagen ausser *Proteus vulgaris* einen negativen Bakterienbefund. Solchen Kaninchen wurde 30 mg/kg $FeSO_4$ verabreicht. Nach 18 h zeigte die Serumanalyse auf Eisen, dass dieses nicht resorbiert wurde. Nachdem denselben Kaninchen eine grössere Menge Blut entnommen und die Anämie durch eine weitere Kontrolle des Serumeisens festgestellt wurde, bekamen sie dann nach 2 Tagen dieselbe Dosis $FeSO_4$, doch kam es auch dann nicht zu einer Resorption. Wenn die Verabreichung der Antibiotika ausbleibt, so tritt bei denselben Kaninchen nach einigen Tagen, während welchen sich die normale Darmflora wieder entwickelte, eine Resorption des verabreichten $FeSO_4$ ein.

Daraus konnten wir schliessen, dass die normale Darmflora eine Bedingung für die Eisenresorption ist. In weiteren Versuchen kultivierten wir gegen Terramycin resistente Enterokokken und Kolibazillen. Nach Verabreichung solcher Kulturen an anämisierte Kaninchen, die die erwähnten Antibiotika erhielten, und ihrer weiterhin erfolgten Belastung mit $FeSO_4$, wurde das Eisen wieder resorbiert. Das spricht für die schon erwähnte Beobachtung, dass die normale Darmflora für die Eisenresorption notwendig ist.

Die Eisenbestimmung wurde nach der Methode Heilmeyer-Plötner ausgeführt[1].

Unsere weiteren Arbeiten befassen sich mit der Bedeutung der Darmflora für die Funktion des Apoferritins bzw. Ferritins.

Ein ausführlicher Bericht erscheint in den Acta medica Jugoslavica.

P. Stern, R. Košak und A. Misirlija

Pharmakologisches Institut der Universität Sarajevo, den 17. Dezember 1953.

Summary

In rabbits whose intestinal tract has been "sterilised" by means of penicilline and terramycine, there is no detectable iron resorption, even when the animals are made anaemic.

Iron resorption can be restored by means of addition of terramycine-resistent *E. coli* or Enterococci to the diet.

[1] L. Heilmeyer, G. Fischer und K. Plötner, *Das Serumeisen und die Eisenmangelkrankheit*, Jena 1937, S. 8.

PRO EXPERIMENTIS

A Method of Mass Tissue Culture in Bacteriological Culture Dishes[1]

The Carrel flask was devised to prevent microbial contamination of tissue cultures. Since antibiotics have come to be used routinely, those of its special features designed to minimize the risk of infection, have lost much of their importance. And because of limited accessibility to the culture space, and its relatively small size, the Carrel type of flask is inconvenient for the preparation of large scale cultures of cells such as are

[1] Aided by grants from the Masonic Foundation for Medical Research, Human Welfare and the U.S.P.H.S.

most useful as substrate for the propagation of viruses, or for the purposes of chemical analysis. Earle's flask #T–60[1] has increased size and improves microscopic visibility, but does not facilitate the accessibility to the culture space. An adaptation of culture dishes to simplify the Maximow slide method by placing several coverslip cultures under a watch glass in a Petri dish was suggested by Barta[2]. Culture dishes have also been used in organ-culture[3]. These techniques have little bearing on the problem of preparing mass cultures. Erlenmeyer flasks, Roux bottles, and other vessels have been used for mass cultivation of cells, particularly for virology, but these do not readily permit direct microscopical observation of the cells. These disadvantages have largely been overcome by employing bacteriological culture dishes for mass tissue culture.

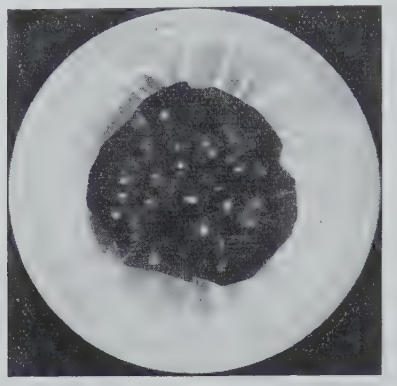


Fig. 1.–18 day old tissue cultures (chick) in Petri dish 100 × 10 mm sealed with parafilm.

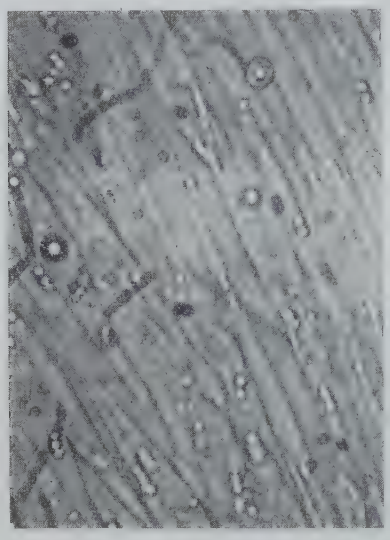


Fig. 2.–Chick embryo heart fibroblasts grown for 7 days in Petri dish 150 × 10 mm. Magnification 400 ×.

Fig. 3.–10 day old tissue cultures growing in a Petroff bacteriological culture dish, 100 × 10 mm.

Methods. Petri dishes 10 or 15 cm in diameter and 1 cm in height were used. The entire bottom of the dish was coated with a film of chicken plasma (2–5 ml depending upon dish size) and 5 to 8 tissue fragments, per square cm, were then explanted into the plasma. 3–5 ml of a medium consisting of 80% of chick amniotic fluid[4] and 20% undiluted chick embryo extract and containing 250 units of potassium penicillin and/or 0·10 mg streptomycin per ml. were added before coagulation of the plasma. For human embryo tissue 15% of human placenta serum was added. The dish was closed by a 4–5 cm wide strip of parafilm or Scotch tape around the rim of the dish. The Syracuse culture dish was used in order to obviate the necessity for opening the culture dish by each refeeding, which can be done by insertion of a pipette into the single opening, kept sealed with parafilm at other times. (Models of dishes in which both halves are closely fitted together at their circumference without an annular air space between both halves have been suggested for fabrication.) Petri dishes with flat-ground rims were also used, two upper or bottom halves being sealed with paraffin and then covered with parafilm or Scotch tape. Another bacteriological culture dish, the Petroff dish, has also proved satisfactory, although accessibility and optical conditions are somewhat inferior to those of ordinary Petri dishes. This dish is of one piece with an open sidearm that may be closed with parafilm or rubber stocking. The intervals between renewals of medium could safely be extended to 4–6 days, or even longer. Sometimes it appeared convenient to add plasma to the renewed medium to reduce the volume of free fluid.

For obtaining chicken amniotic fluid[5], eggs of 8–12 days of incubation may be used. Under the visible part of the exposed allantoic membrane the amnion, a white avascular sac emerging between the receding allantois and yolk sac, is punctured and 2–4 ml of amniotic fluid is aspirated. Chick amniotic fluid suitable for tissue culture use must be water clear and colorless.

Results. The growth of cultures prepared in the manner described was luxurious. Over large areas many growth layers were superimposed upon one another, forming dense mats of cells. In general the floor of the dish was fairly covered with thick outgrowth in the third week. Microscopic observation of cells cultivated in Petri dishes was possible up to 400 diameters. For subsequent microscopy with phase contrast, or for the fixing and staining of cultures, explants could be made on glass or mica coverslips affixed to the bottom of the dish with

[1] W. R. Earle, V. J. Evans, and E. L. Schilling, J. Nat. Cancer Inst. *10*, 943 (1950).
[2] E. Barta, Arch. Exp. Zellforsch. *4*, 600 (1927).
[3] H. B. Fell and R. G. Canti, Arch. Exp. Zellf. *15*, 311 (1934).
[4] H. Grossfeld, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *71*, 475 (1949).
[5] H. Grossfeld, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *71*, 475 (1949).

plasma. Among the tissues grown in culture dishes in chick amniotic fluid medium were chick heart fibroblasts, muscle, a variety of epithelia, glial cells, human embryonic skin and human embryonic heart fibroblasts. The exposure of explants and media to the open air was no greater in these than in other methods of tissue culture and the hazard of bacterial contamination proved to be negligible.

Amniotic fluid[1] was found to be an excellent basic constituent of culture media in these experiments. The large surface volume ratio obtaining at the air-fluid interphase assures excellent oxygenation. These factors, and the wide surface available for growth and migration may also be connected with the good growth obtained with longer periods between renewals of the medium.

The author is indebted to Dr. John Decker and to Dr. Gabriel Godman for helpful suggestions.

H. Grossfeld

From the Histochemistry Research Laboratory, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, N. Y., and the Edward Daniels Faulkner Arthritis Clinic of the Pressbyterian Hospital, New York, December 8, 1953.

Zusammenfassung

Eine Methode der Massen-Gewebezüchtung in Petrischalen, geeignet für Viruszüchtung und für chemische Analysen, wird beschrieben, mit welcher, wenn ein gemeinsames, zusammenhängendes Plasmagerinnsel mit Zusatz von Embryonalextrakt und Amnionflüssigkeit als Züchtungsmedium benutzt wird. Ein besonders rasches, dichtes Kulturwachstum kann so leicht erzielt werden. Mikroskopische Beobachtung der Zellen ist bei 400facher Vergrösserung, im gewöhnlichen und im invertierten Mikroskop, leicht möglich.

[1] H. Grossfeld, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *71*, 475 (1949).

PRO LABORATORIO

Le néphélégraphe

On utilise en statistique, dans ses applications à la biologie, à l'économétrie, à la démographie, etc., pour rechercher les corrélations entre deux caractéristiques numériques affectant les éléments d'une collection, un procédé de prospection qui consiste à marquer, dans un système d'axes cartésiens, pour chaque élément, un point ayant pour coordonnées les deux caractéristiques. On obtient ainsi un «nuage de points» ou néphélégramme. La disposition des points obtenus, leur alignement ou leur concentration, permettent parfois de tirer des conclusions sur les relations qui peuvent exister entre les caractéristiques considérées, ou de découvrir des groupes parmi les éléments, ou bien encore suggèrent des hypothèses plus ou moins fructueuses.

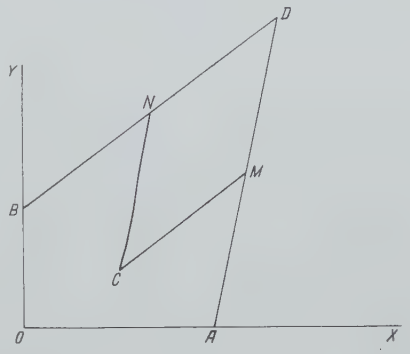
La confection à la main des néphélégrammes demande une attention soutenue et beaucoup de temps. Pour faciliter et accélérer ce travail il est raisonnable d'utiliser des appareils.

Le seul appareil proposé jusqu'à ce jour, d'après nos informations, consiste en deux règles, qui en se déplaçant restent (ou pour mieux dire, doivent rester) perpendiculaires aux axes. On les fixe sur les coordonnées choisies: il ne reste qu'à marquer un point au croisement des deux règles. Cet appareil est peu pratique parce que, dans sa forme légère, la perpendicularité exacte est difficile à assurer d'une façon stable, et que, dans sa forme massive, qui permet plus d'exactitude, il est peu maniable. De plus, il est lent.

C'est pourquoi l'auteur a inventé une machine dans laquelle il suffit de mettre deux index, pouvant se déplacer le long de règles graduées, en face des valeurs numériques à inscrire, pour amener automatiquement sur une feuille de papier, à la place voulue, une pointe encrée que l'on peut abaisser pour marquer un point sur le graphique.

Un tel appareil peut évidemment servir également à construire une courbe par points[1].

Cette machine a été réalisée très simplement au moyen d'un système articulé plan, formé de quatre tiges rigides AD, BD, MC, NC, telles que $AM = MD = MC = ND = CN = BN$ et articulées à leur point de rencontre. Le point A est astreint à se déplacer suivant OX et le point B suivant OY. Il est facile de se rendre compte que les coordonnées du point C, par rapport à ce système d'axes, sont respectivement égales à la moitié de l'abscisse de A et à la moitié de l'ordonnée de B.



Les points A et B sont matérialisées par des curseurs glissant le long de deux règles, graduées suivant les besoins et d'ailleurs interchangeables. Le point C est matérialisé par une pointe, garnie d'encre, qui vient au contact du papier au moyen d'un électro-aimant commandé par le jeu d'une manette ou d'une pédale, qui établit un contact.

Il n'y a aucun doute qu'un tel agencement est beaucoup plus parfait que celui mentionné plus haut. Il est plus léger. et ce qui est encore plus important, il est très fidèle, attendu qu'il n'impose aucun angle invariable dans les pièces mobiles.

Cet appareil peut donc être utilisé avec profit dans les bureaux de statistique pour rechercher les corrélations et dans les laboratoires scientifiques pour construire commodément et rapidement des courbes par points.

P. J. A. Muffang

Conservatoire national des Arts et Métiers, Paris. Le 8 novembre 1953.

Summary

The author proposes an instrument for the simple and rapid calculation of the areas of points determined by two coordinates. Among many other applications, this apparatus can be used for finding correlations between two numerical characteristics in biology, or econometry, or demography, etc.

[1] Et inversement à relever, d'après un diagramme obtenu par un enregistreur automatique, un tableau de chiffres, pour rechercher par les méthodes mathématiques une fonction représentative,

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie

Dritte Auflage

Herausgegeben von Dr. Wilhelm Foerst
3. Band. 851 Seiten
(Urban & Schwarzenberg, München, Berlin und Wien 1953)
Ganzleinen DM 108.–

In der Neubearbeitung der Ullmannschen Enzyklopädie beginnt mit dem dritten Band der eigentliche lexikalische Teil des Werkes. Er enthält – von Abietinsäure bis Arsenverbindungen – annähernd ausschliesslich Bezeichnungen von Stoffen und Stoffgruppen als Stichworte, da alles Grundsätzliche in zwei systematischen Bänden über chemischen Apparatebau und Verfahrenstechnik (Band 1) und Betrieb und Laboratorium (Band 2, noch nicht erschienen) vereinigt ist. Aber auch innerhalb des lexikalischen Teiles ist darauf geachtet worden, Verwandtes noch stärker zusammenzufassen, ist doch die Zahl der Artikel von 186 im entsprechenden Abschnitt der früheren Auflage auf 72 zurückgegangen, während die Stichworte mit blossen Hinweisen auf andere, trotz Weglassungen, von 52 auf 77 zugenommen haben. Dem dadurch erreichten grossen Vorteil kompakter, lehrbuchartiger Darstellungen steht ein gewisser Nachteil in der Anordnung gegenüber, indem die Hinweisstichworte zwischen den viele Seiten langen Artikeln fast verschwinden. Durch Einfügung der Hinweise in das jedem Band vorangestellte Stichwortverzeichnis könnte diese Unbequemlichkeit schon vor der programmgemäss erst in fünf Jahren erfolgenden Herausgabe des Registerbandes leicht überwunden werden.

Die Stichworte als Ausgangspunkte der einzelnen Artikel betreffen fast immer, gemäss dem Titel des Werkes, Stoffe von technischer Bedeutung. Nur vereinzelt sind auch technisch bedeutungslose Grundkörper wichtiger Stoffklassen aufgenommen. Im Inhalt aber gehen die Texte in verschiedener Beziehung weit über das Technische hinaus. Einmal enthalten sie oft einleitend rein Wissenschaftliches in Form von theoretischen Überlegungen und Abschnitten über Begriffe und Methoden der allgemeinen und physikalischen Chemie. Vor allem aber werden unter vielen Stichwortstoffen auch deren Derivate sowie verwandte Stoffe beschrieben, die nur von wissenschaftlichem Interesse sind. So enthält ein über 100 Seiten starker, ausgezeichneter Artikel Angaben über Eigenschaften und Gewinnung von 211 Alkaloiden, von denen nur rund drei Dutzend technisch hergestellt und ausschliesslich zu Heilzwecken verwendet werden. Damit wird eine wissenschaftliche Vollständigkeit angestrebt, die man von einer technischen Enzyklopädie nicht erwartet.

Die Sucharbeit nach Einzelheiten wird dem Benützer des Werkes leicht gemacht durch gleichförmigen Aufbau der Texte, der, trotz der Tatsache, dass annähernd gleichviel Autoren wie besprochene Stichworte zu verzeichnen sind, weitgehend erreicht werden konnte durch Anwendung des Schemas: Definitionen, Geschichtliches, Eigenschaften, Vorkommen, Darstellung, Qualität und Analyse, Verwendung, Toxikologie, Derivate, Wirtschaftliches, Literatur. Je nach Bedeutung der einzelnen Stoffe fallen dabei einzelne Rubriken weg, die Reihenfolge bleibt jedoch erhalten. Im Zentrum der Betrachtung steht immer die Herstellung. Bei grosstechnischen Produkten, wie Azetylen, Ammoniak, Aluminium, Anthrachinon-Farbstoffe, Antibiotika, um nur die wichtigsten zu nennen, sind mehrere der angewandten Fabrikationsverfahren ausführlich beschrieben und mit Fliessbildern und Apparatezeichnungen belegt. Diese Texte haben den Charakter von Monographien angenommen. Sie werden, wie etwa der hervorragende Artikel über Antibiotika, für viele über den Wert als Datensammlung hinaus, als Einführung in ein neues Arbeitsgebiet dienen können.

R. Rometsch

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Problems of Gas Exchange in the Lungs

A method of studying CO_2 transfer[1]

By K. Bucher[2], L. Dettli[2] and F. Grün[3]

Ever since Krogh *et al.*[4] carried out their classical research the general text book opinion concerning gas exchange in the lungs has been that this is achieved exclusively by diffusion. This supposition is based upon calculations showing that the difference in the gas pressure between the blood and alveoli should let at least as much gas to diffuse as actually does pass through and that therefore diffusion alone may suffice to explain the gaseous exchange. With such calculations the barrier—which hereafter we shall call the membrane–between the alveolar air and blood is considered as water, at least as far as diffusion is concerned.

There are different factors inducing us to approach this old problem from–as we think– a new angle. For one, it does not necessarily follow, because an hypothesis may sufficiently explain a phenomenon, that this represents the actual state of affairs. Or, the fact that the calculations made here concern, in the case of oxygen, only its absorption and, in the case of carbon dioxide, only its excretion. This may be irrelevant for oxygen but not for carbon dioxide, because this latter substance is not merely a byproduct but performs certain physiological functions. There are situations in which the body would

[1] Based on a lecture held at the 19th International Physiological Congress in Montreal, Canada, 1953.
[2] Department of Pharmacology, University of Basle.
[3] Department of Physical Chemistry, University of Basle.
[4] M. Krogh, J. Physiol. *49*, 271 (1915) and other papers.

even require protection against the loss of carbon dioxide, i.e. carbon dioxide retention could be desirable[1]. We therefore asked ourselves in what respect the lung could possibly contain mechanisms which serve to control the elimination of CO_2.

In tackling this problem we determined to investigate first of all the function of the membrane with regards to the transfer of CO_2. It is obvious that in investigating such transfer patterns knowledge of the dimensions of the membrane is an absolute necessity. However, it is in just this respect that study of CO_2-transfer in the lung presents great difficulties. Namely, observations and conclusions—at least as regards thickness and expansion of the membrane—contain so many uncertainties[2] that the data necessary for quantitative treatment are almost impossible to make.

In consideration of this difficulty we made the following supposition. If there exist in the membrane mechanisms which are able to regulate carbon dioxide passage it may be assumed that a transfer of CO_2 from the blood into the alveoli—that is, in the normal direction—will somehow or other follow a somewhat different pattern than a transfer in the opposite direction from the alveoli into the blood stream. If so, suitable experiments comparing these transfers must be devised, in which the dimensions of the membrane can be kept constant for passage in either direction. Then conclusions concerning the mechanism of gas transfer in the lungs could be drawn whereby these dimensions can be ignored.

On the basis of this supposition our first goal during our investigation was to develop a pattern of research which fulfilled the following conditions:

First, carbon dioxide passage through the membrane should be able to be directed at will from blood to alveoli and vice versa. In principle this goal can be attained by using radioactive $C^{14}O_2$ as explained schematically in figure 1.

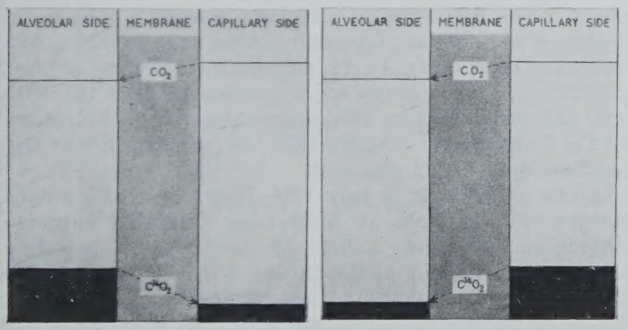


Fig. 1.—The CO_2 pressure gradient between the pulmonary capillary blood and the alveolar air normally is about 2 mm Hg (indicated by the slope of the upper arrow). If we add to the blood $C^{14}O_2$ (diagram on the right), we attain a pressure gradient in the same normal direction for the radioactive carbon dioxide, i.e., the carbon dioxide which we actually measure and trace. If, however, we add the $C^{14}O_2$ to the alveolar air (diagram on the left), we obtain under the otherwise exactly same conditions (as regards the total CO_2 present) a pressure gradient in the opposite direction.

The other condition is to keep the dimensions of the membrane constant, whether the CO_2-transfer occurs in one or the other direction. This condition was easy to meet—at least on the isolated lungs—and for the time being we are doing our work only on these. All that is necessary is to keep constant the residual air, tidal air, frequency of respiration, pressure in the pulmonary artery and the rate of blood flow. Then the dimensions of the membrane may also be assumed to be the same and therefore cease to be a possible disturbing factor.

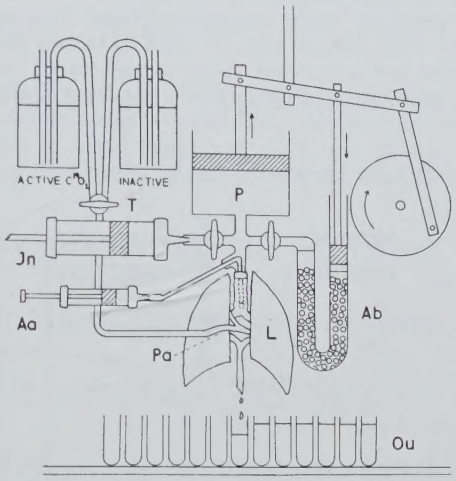


Fig. 2.—Scheme of arrangement. For description see text.

The arrangement of our method is depicted by figure 2: The isolated lung taken from a rabbit weighing about 2·5 kg is made to breathe by means of the pump arrangement *P* (frequency 100/min, piston stroke 20 ml and dead space to tracheal bifurcation 3·5 ml). Since the system is closed the lung can be maintained to any desired state of inflation. The perfusion fluid flows under constant pressure into the pulmonary artery *Pa* and leaves through the left auricle. Only buffered solutions containing NaCl, KH_2PO_4, and Na_2HPO_4 without the addition of blood are used. The perfusion fluid contains—according to the position of the tap T—either the inactive or the radioactive carbon dioxide.

Furthermore provision is made for the removal of samples of alveolar air (at *Aa*), for the collection of samples of the outflowing fluid (*Ou*), for injection of air with or without radioactive CO_2 (*In*), and then—above all—for continuous absorption of CO_2 from the alveolar air (*Ab*). The absorber *Ab* consists of a U-shaped tube filled with glass beads and 1/10th normal sodium hydroxide. The alkaline solution is moved up and down, by means of the respiratory pump itself, so that with every breath a certain definite amount of alveolar air, e.g. 1 ml, is completely freed of CO_2. The simultaneous determination of $C^{14}O_2$ in the alveolar air (c^{alv}) and the outflowing (c_1^{cap}) and absorbing solutions is carried out according to a method previously described[1].

Figure 3 depicts a typical experiment. After setting up the preparation we first perfuse with inactive solution for about 2 min. Then by turning the tap *T* perfusion with active solution begins. The experiment starts at this exact moment (time 0 in Fig. 3). At the same time the absorber is turned on and the injection apparatus *In* is set into motion. This latter supplies air at constant speed to replace the amount of alveolar air (e.g. 1 ml/min) which is taken periodically for the determination of c^{alv}. Thereby the lung inflation remains constant throughout the whole experiment. As expected the radioactivity of both the out-flowing solution and alveolar air is raised.

[1] Y. Henderson, *Adventures in Respiration* (Williams Wilkins Co., Baltimore, 1938).

[2] H. v. Hayek, *Die menschliche Lunge* (Springer, Berlin, 1953).

[1] L. Dettli, F. Grün, G. Ritzel, and K. Bucher, Helv. Physiol. Acta *11*, 122 (1953).

However, both soon reach a plateau and from this moment on a steady state exists, in which, continuously, a constant amount of CO_2 leaves the capillaries and is taken by the absorber. This amount can be determined by replacing the absorber for a short time by a second identical one and measuring the amount of radioactivity taken up by the latter per unit of time. This has been done two times (at minutes 11 and 14). In fact the actual conditions are somewhat more complicated because a certain amount of $C^{14}O_2$ enters the lung tissue from which it may or may not leave. Therefore the values determined in the absorber must have a correction factor, which we are working on at present.

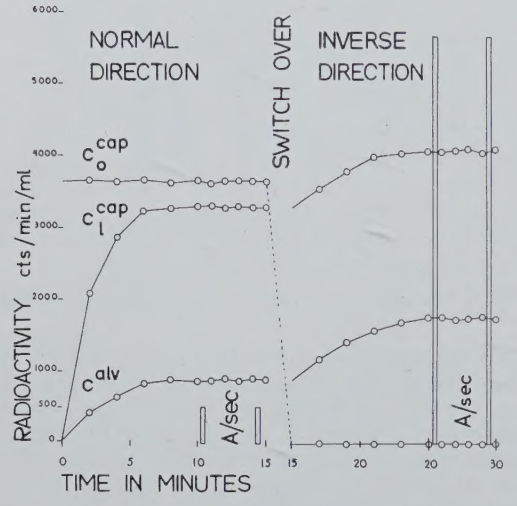


Fig. 3.—A typical experiment (2. 9. 52). Perfusion velocity 1·5 ml/s; pH of perfusion solution 6·5; lung inflation 50 ml (plus 20 ml piston stroke). The curves show the concentration of the $C^{14}O_2$ in the inflowing solution (c_0^{cap}), in the outflowing solution (c_l^{cap}) and in the alveolar air (c^{alv}). The columns indicate the amount A of radioactive CO_2 taken by the absorber (at minute 11 and 14) or leaving the alveoli (at minute 21 and 29) per second (expressed in cts/min).

We allow the steady state to persist for a few minutes and then initiate the so called "reverse experiment" by simply turning back the tap T on the inactive perfusion solution (at minute 15). At the same time the absorber is switched off. And now radioactive CO_2 is added continuously at constant speed to the alveolar air by means of mixing $C^{14}O_2$ with the air supplied by *In*. Under these circumstances also a plateau is reached by c^{alv} as well as by c^{cap}. Therefore there is again a steady state, in which a constant amount of radioactive CO_2 leaves the alveoli. This amount can be determined in the outflowing solution and this has been done two times (at minutes 21 and 29). A correction factor is necessary here too (see above, line 11).

Using these principles we have carried out to date several series of experiments in which we changed systematically and over a wide range the pH of the perfusion solution, the velocity of the perfusion, the degree of lung expansion, etc. In all these cases pronounced and persistent steady states developed. Therefore we can assume that our preparation is suitable for study of the problems in question.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, welche erlaubt, den CO_2-Austausch in der Lunge nach neuartigen Gesichtspunkten zu studieren.

CONGRESSUS

Holland

International Conference on Semiconductors

The Netherlands Physical Society, with the support of the International Union of Pure and Applied Physics, and UNESCO., will organize an International Conference on Semiconductors, to be held at *Amsterdam* from June 29th–July 3rd, 1954.

H. B. G. Casimir: Introductory paper.

W. Shockley: Bulk recombination and surface recombination. Theoretical ideas and possibilities.

J. Bardeen: Surface conductivity, surface potential, space charge layer and surface trapping.

W. H. Brattain: The relation between surface potential, surface recombination, current flow across the surface and non equilibrium minority carrier density.

H. Welker: Intermetallic compounds, theoretical concepts, experimental results. The III–V compounds will be treated, and also compounds like CdSb, Mg_3Sb_2, etc.

F. A. Kröger: The preparation in a reproducible manner of polar semiconductors having specific properties.

H. J. Vink: The nature of the impurity centres in sulphide type semiconductors.

R. A. Smith: Photoconductivity and related phenomena in the sulphides, selenides and tellurides of Pb. Mobility and range of charge carriers. Traps.

M. Schön: Photoconductivity and luminescence in sulphide type materials, Build-up, decay, capture cross-section.

D. Polder: Summary, followed by General Discussion.

Secretary: Dr. H. J. Vink, Floralaan 142, Eindhoven, Holland.

The afternoon sessions will be devoted to sectional meetings. During these meetings, a limited number of short communications of all kinds, related to the main topics, will be given. Generally these contributions will take not more than 10–15 min each, including a brief discussion. Contributors are requested to send the title and summary of their communication to the Secretary of the Conference, in order that the programmes of the sessions may be coordinated.

During the week of July 12th–July 17th, 1954, a conference will be held at Bristol on a related subject: *Defects in Crystalline Solids*. As there was a possibility of some overlapping of the topics of the Bristol and the Amsterdam conferences, these topics have been subjected to careful consideration at a joint meeting of the organizers of the Bristol and Amsterdam conferences. It is thought that the subjects finally chosen not only do not overlap but will make the two conferences complementary to each other.

At the Amsterdam Conference, the languages will be English, French, and German. All the official announcements issued by the Secretary, however, will be given only in English.

A more detailed programme or any further information may be obtained from the Secretary.

Those wishing to attend the Conference must apply to the Secretary. All the necessary information (detailed programme, hotel form, etc.) will then be forwarded. Applications must be made as soon as possible, the closing date being June 1st, 1954.

There is no fee for the Conference.

Since this preliminary programme has been sent only to a limited number of scientists, you are requested to inform others who may be interested in this Conference.

Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

Methergin

Neo-Gynergen

Partergin

SANDOZ

S A N D O Z A. G.

Eine Monographie über den Stand der Mutterkorn-Forschung steht Interessenten zur Verfügung.

PROF. DR. LUDWIG BERGMANN

DER ULTRASCHALL

und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik

ca. XII, 1040 Seiten mit 610 Abbildungen und 120 Tabellen. Gr.—8°. In Ganzleinen gebunden ca. sFr. 65.—

Neubearbeitete und erweiterte 6. AUFLAGE

Die im Mai 1954 erscheinende 6. Auflage des Ultraschallbuches ist gegenüber der letzten Auflage völlig neu überarbeitet und ganz wesentlich erweitert worden.

Das geht zunächst aus dem Schrifttumverzeichnis hervor, das jetzt insgesamt 4935 Arbeiten gegenüber 2322 bei der letzten Auflage enthält. Damit dürfte diese Literatursammlung zurzeit die vollständigste auf dem Gebiet der Ultraschallforschung darstellen. Die Zahl der Abbildungen ist in der neuen Auflage von 460 auf 574, die Zahl der Tabellen von 83 auf 120 erhöht worden. – Damit gibt das Buch von Bergmann einen umfassenden Überblick über den derzeitigen Stand der Ultraschallforschung und die verschiedenen Anwendungen in der Technik. Mit grossem pädagogischem Geschick hat es der Verfasser, der selbst viele Jahre auf dem Ultraschallgebiet fruchtbare Arbeit geleistet hat, verstanden, alles, was auf diesem Gebiet an physikalischen und praktischen Ergebnissen erreicht wurde, in übersichtlicher Form zusammenzustellen. Dabei wurde wie in den früheren Auflagen das Schwergewicht der Darstellung auf die physikalischen Sachverhalte, die Messverfahren und die Versuchsvorrichtungen gelegt, während die theoretischen Grundlagen und Arbeiten nur soweit berücksichtigt wurden, als dies für das Verständnis notwendig ist. Durch die Wiedergabe der bis jetzt vorliegenden sicheren Versuchsergebnisse in zahlreichen Tabellen, durch das sehr ausführliche Schrifttumverzeichnis, in dem, soweit möglich, auch Patentschriften mit aufgenommen wurden, stellt das Buch ein sehr wertvolles Nachschlagewerk und einen unentbehrlichen Ratgeber für jeden dar, der sich über diesen Zweig der Akustik informieren oder auf ihm selbst weiterarbeiten will.

The journal of the acoustical society of America, Vol. 22, Nr. 4: The Author has rendered a genuine service to all workers in ultrasonics and allied fields by bringing together so much valuable material in one place and organizing it so systematically and efficiently. No worker in the field can really afford to have this book very far away from his desk. R. B. Lindsay, Brown, University, Rhode Island.

Bericht des internationalen Elektro-akustischen Kongresses in Holland 1953

Proceedings of the first ICA-Congress Electro-Acoustics Netherlands 1953

314 Seiten, kart. Gr. 8°, sFr. 24.80 – Heft 1 von Band 4 der internationalen Zeitschrift „Acustica"

91 Vorträge über folgende Sektionen:

Schallaufzeichnung und -Wiedergabe – Elektroakustische Übertragungsanlagen – Akustische Messtechnik – Hörhilfen und Audiometer – Ultraschall – Musikalische Akustik – Schalldämmung leichter Strukturen.

Sound recording – Public address systems – Acoustic measurements – Hearing aids and audiometers – Electroacoustics in ultrasonics – Electroacoustics applied to musical instruments – The sound insulation of light-weight structures.

DR. HERMANN FLOHN

Oberregierungsrat am Zentralamt für Wetterdienst

Professor an der Universität Würzburg

Witterung und Klima in Mitteleuropa

Mit regionalen Beiträgen von Prof. Dr. FRIEDRICH LAUSCHER (Wien) über Österreich und von Dr. MAX SCHÜEPP (Meteorologische Zentralanstalt Zürich) über die Schweiz

Zweite erweiterte und neubearbeitete Auflage

214 Seiten Text. Mit 2 farbigen Kartenbeilagen und 44 Abbildungen, davon 4 im Text und 29 auf 27 grossen, farbigen Tafeln. Gr. 8°. Gebunden Fr. 26.40

S. HIRZEL VERLAG · ZÜRICH